

SÉRIE A, N° 3580.

N° D'ORDRE: 4452.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Daniel ZAGURY

Première thèse. — CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DES
SÉCRÉTIONS PANCRÉATIQUES CHEZ LE RAT.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 octobre 1960 devant la Commission d'examen :

MM. GRASSÉ	<i>Président.</i>
THOMAS	} <i>Examineurs.</i>
COUTEAUX	

PARIS

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1961

SÉRIE A, N° 3580.

N° D'ORDRE: 4452.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Daniel ZAGURY

Première thèse. — CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DES
SÉCRÉTIONS PANCRÉATIQUES CHEZ LE RAT.

Deuxième thèse. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 octobre 1960 devant la Commission d'examen :

MM. GRASSÉ	<i>Président.</i>
THOMAS	} <i>Examineurs.</i>
COUTEAUX	



PARIS

MASSON & C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1961

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen J. PÉRÈS.

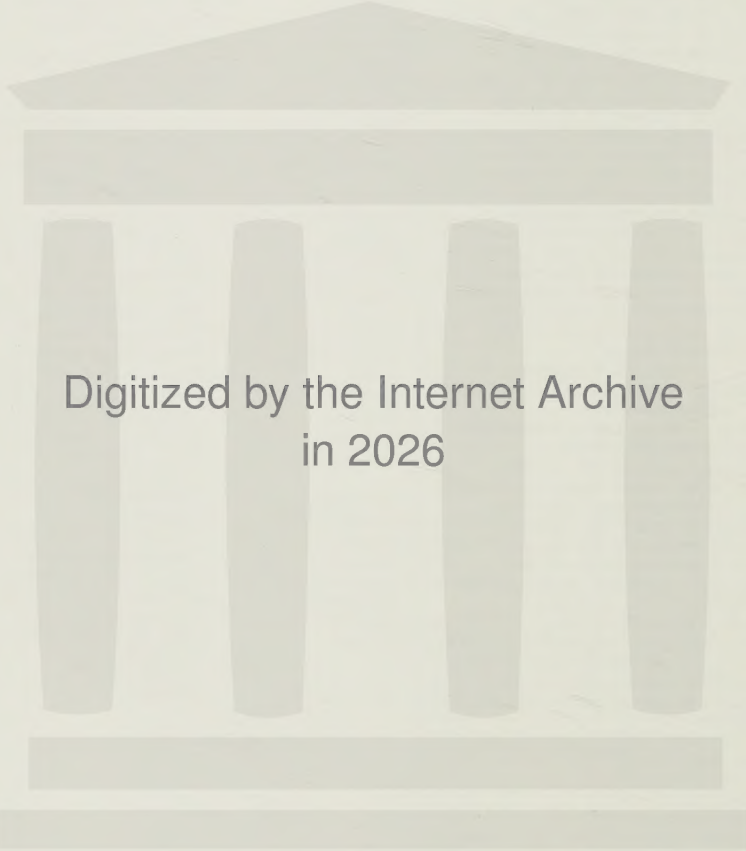
PROFESSEURS

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	QUELET	T Chimie organique.
DE BROGLIE	T Théories physiques.	CAGNIARD	T Géophysique appliquée.
PRENANT	T Anat. et Histol. comp.	CHAMPETIER	T Chimie macromolécul.
PÉRÈS	T Mécan. des fluides et appl.	CUVILLIER	T Micropaléontologie.
BARRABÉ	T Géol. struct. et géol. appl.	JUNG	T Pétrographie.
J. BOURCART	T Géogr. phys. et géol. dyn.	TRILLAT	T Microscopie et diffraction électronique.
PLANTEFOL	T Botanique.	WIEMANN	T Chimie org. et structur.
GRASSÉ	T Evol. des êtres organisés.	JACQUINOT	T Spectroscopie et phy- sique céleste.
PRÉVOST	T Chimie organique.	VASSY	T Physique de l'atmosph.
BOULIGAND	T Application de l'analyse à la Géométrie.	DESTOUCHES	T Théories physiques.
CHAUDRON	T Chimie appliquée.	PRUVOST	T Géologie.
WYART	T Minéralogie.	AMIEL	T Chimie générale.
TEISSIER	T Zoologie.	HOCART	T Minéralogie.
MANGENOT	T Biologie végétale.	J.-P. MATHIEU	T Physique (Orsay).
P. AUGER	T Physique quant. et relat.	COUTEAUX	T Biologie anim. (P. C. B.).
MONNIER	T Physiologie générale.	MAY	T Zoologie (Orsay).
PIVETEAU	T Paléontologie.	CHOQUET	T Théor. des fonctions et topologie.
ROCARD	T Physique (E. N. S.).	FELDMANN	T Biologie végétale marine.
H. CARTAN	T Mathématiques (E. N. S.).	GUINIER	T Physique des solides.
LAFFITTE	T Chimie générale.	JOST	T Physiologie comparée.
FAVARD	T Géométrie supérieure.	FORTET	T Calcul des probabilités et physique mathémat.
COULOMB	T Physique du Globe.	SCHWARTZ	T Calc. diff. et intégr.
M ^{lle} COUSIN	T Biol. anim. (S. P. C. N.).	CHOUARD	T Physiologie végétale.
CHRÉTIEN	T Chimie minérale.	MALAVARD	T Aviation.
P. DRACH	T Zoologie.	BRELOT	T Calcul différentiel.
KASTLER	T Physique (E. N. S.).	NORMANT	T Synthèse organique.
EPHRUSSI	T Génétique.	BENARD	T Chimie minérale.
WURMSER	T Biol. physico-chimique.	BUVAT	T Botanique (E. N. S.).
RIVIÈRE	T Géol. (S. P. C. N.) (Orsay).	DUGUÉ	T Statistiques mathémat.
GAUTHERET	T Biologie végét. (P. C. B.).	GELOSO	T Chimie (S. P. C. N.).
LUCAS	T Recherches physiques.	SOULAIRAC	T Psychophysologie.
A. THOMAS	T Biologie cellulaire.	ULRICH	T Physiologie végétale.
ARNULF	T Optique appliquée.	MARÉCHAL	T Optique théor. et appl.
M. MORAND	T Enseig. de physique.	KIRRMANN	T Théories chimiques.
SOLEILLET	T Physique (P. C. B.).	CHADEFAUD	T Botanique.
FORTIER	T Mécan. expér. des fluides.	M ^{lle} LE BRETON	T Physiologie générale.
DANJON	T Astronomie.	SALEM	T Mathématiques générales.
PETIT	T Biologie maritime.	LELONG	T Mathématiques générales.
QUENEY	T Météorologie et dyna- mique atmosphérique.	DEVILLERS	T Anat. et histol. comp.
GALLIEN	T Embryologie.	EHRESMANN	T Topologie algébrique.
EICHBORN	T Biol. végét. (S. P. C. N.).	FRANÇON	T Physique (S. P. C. N.).
DE CUGNAC	T Biol. végét. (S. P. C. N.).	GLANGEAUD	T Géogr. phys. et géol. dyn.
M ^{lle} CAUCHOIS	T Chimie physique.	GODEMENT	T Mathématiques (M. G. P.).
THELLIER	T Physique du Globe.	PISOT	T Techniques mathémat. de la Physique.
L'HÉRITIER	T Génétique.	E. ROCH	T Géologie.
GRIVET	T Radio-Électricité.	SCHATZMANN	T Astrophysique.
PONCIN	T Mécanique générale.	TERMIER	T Paléontol. stratigraph.
DUBREIL	T Arithmétique et théorie des nombres.	ZAMANSKY	T Mathémat. générales.

Professeurs (suite).

LENNUIER	T Physique (M. G. P.).	G. LUCAS	T Géologie.
RIZET	Génétique.	ALLARD	Chimie physique.
ROUTHIER	T Géologie appliquée.	BERTHELOT	Phys. nucl. et radioact.
M ^{me} TONNELAT ..	T Relativité.	BRICARD	Météorol. et physique de l'atmosphère.
DIXMIER	T Mathématiques (M. P. C.).	M ^{me} ALBE-FESSARD	Psychophysiologie.
SOUCHAY	T Chimie générale.	FRIEDEL	Physique des solides.
AIGRAIN	T Electrotechn. génér.	M. JULIA	Etude des molécules organiques complexes.
BRUSSET	Chimie minérale.	LENDER	Biol. animale (S. P. C. N.) (Orsay).
M. LÉVY	T Physique théorique des hautes énergies.	MAGAT	Physico-chim. des rayonnements.
M ^{me} CHAIX	Chimie biologique.	M ^{me} QUINTIN	T Electrochimie.
M ^{me} HUREL-PY ..	Biol. végétale (P. C. B.).	MONOD	T Chimie du métabolisme.
PIAUX	Chimie (M. P. C.).	BENOIT	T Physiologie animale.
BRUN	T Mécan. expér. des fluides.	DE POSSEL	T Analyse numérique.
LEDERER	T Chimie biologique.	CHARLOT	T Chimie analytique.
M ^{me} DUBREIL	T Mathématiques.	HAÏSSINSKY	T Radiochimie.
M ^{me} LELONG	T Mathématiques (E. N. S.).	LÉMÉE	T Physiologie (B. M. P. V.).
BELLAIR	T Géologie (S. P. C. N.).	GUÉRIN	T Chimie (M. P. C.).
COTTE	T Physique (Orsay).	M. CHATELET	Chimie (S. P. C. N.).
J.-E. DUBOIS ..	T Chimie organique.	JEAN	Phys. nucl. et radioact.
LAMOTTE	Zoologie (E. N. S.).	MATTLER	Physique (S. P. C. N.).
A. MICHEL	T Chimie (S. P. C. N.).	LOUIS MICHEL	Physique théorique des hautes énergies.
OLMER	T Energétique générale.	RUMPF	Chimie (P. C. B.).
ROUAULT	T Physique générale.	BERGERARD	Zoologie (Orsay).
GAUTHIER	T Mécanique appliquée.	BERTEIN	Electronique.
BARCHEWITZ ..	T Chimie physique.	BOUSSIÈRES	Chimie des radio-éléments.
BROSSEL	T Physique atomique.	M ^{me} COUTURE	Physique (P. C. B.).
BUSER	Physiologie comparée.	ELLENBERGER	Géol. struct. et géol. appl.
CAMUS	Physiol. végét. (3 ^e cycle).	FRANC	Biol. animale (P. C. B.).
CASTAING	Physique générale.	SCHNELL	Botanique tropicale.
CURIEN	Minéral. et cristallogr.	STOLKOWSKI	Physiologie générale.
MOYSE	T Physiol. végét. (Orsay).	ACHER	Chimie biol. (Orsay).
PANNETIER	Chimie (S. P. C. N.).	BAUDOIN	Biol. anim. (P. C. B.).
POSSOMPÈS	T Zoologie.	BEAUMONT	Biol. anim. (S. P. C. N.).
PULLMANN	Chimie théorique.	BLAMONT	Géophys., Ionosphère.
TEILLAC	Physique nucl. et radio-activité.	BOURREAU	Biol. végét. (S. P. C. N.) (Orsay).
TONNELAT	Biol. physico-chimique.	D. CURIE	Physique (M. G. P.).
VILLE	T Econométrie.	DURAND-DELGA ..	Géologie.
WILLEMART	Chimie (P. C. B.).	FRÉON	Chimie (P. C. B.).
DODÉ	T Chimie (S.P.C.N.) (Orsay).	HELLER	Physiologie végétale.
FREYMAN	T Physique générale.	TORTAT	Calcul des probabilités.
GUINOCHE	T Biol. vég. (Orsay).	CAILLEUX	Géologie (S. P. C. N.).
ROLLET	T Chimie (P. C. B.).	MAGNAN	Physique (M. P. C.).
M ^{lle} JOSIEN	T Chimie (P. C. B.).	DAUDEL	Mécan. ondul. appl. à la chimie théor. et à la phys. nucl.
CHEVALLEY	T Géomètr. algèbr. et théor. des groupes.	M ^{lle} FOURCROY ...	Biol. végét. (S. P. C. N.).
ARNOULT	T Electronique.		
CHAPELLE	T Physique (M.P.C.) (Orsay).		
DELANGE	T Mathématiques (Orsay).		
DENY	T Mathématiques (M. G. P.).		
GERMAIN	T Mécan. théor. des fluides.		

Secrétaire général CH. MONIER.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DES SÉCRÉTIONS PANCRÉATIQUES CHEZ LE RAT

Par Daniel ZAGURY

SOMMAIRE

CHAPITRE PREMIER. — HISTORIQUE	187
A. — <i>Laguesse pose le problème des processus morphologiques des sécrétions pancréatiques, dès 1904</i>	187
B. — <i>Après Laguesse</i>	189
a) <i>Cytologie à l'aide de la microscopie électronique</i>	189
b) <i>Histochimie et activités enzymatiques</i>	191
c) <i>Expérimentation, histogenèse et culture d'organe</i>	196
CHAPITRE II. — MATÉRIEL, TECHNIQUES ET MÉTHODES	200
A. — <i>Pancréas étudié : forme, type, histogenèse, culture d'organe, physiologie et expérimentation</i>	200
B. — <i>Sacrifices et prélèvements : fixations</i>	202
C. — <i>Techniques d'études et méthodes</i>	202
a) <i>Microscopie optique</i>	202
b) <i>Microscopie électronique</i>	204
c) <i>Histochimie et activités enzymatiques</i>	205
CHAPITRE III. — ÉTUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES SÉCRÉTRICES DU PANCRÉAS DU RAT ADULTE A JEUN DEPUIS 12 HEURES	215
A. — <i>Microscopie optique : topographie et grains de sécrétion</i>	215
B. — <i>Microscopie électronique</i>	216
1° <i>Cellules exocrines</i>	216
a) <i>Cytoplasme</i>	217
b) <i>Appareil de Golgi</i>	218
c) <i>Grains de sécrétion et chondriome</i>	218
d) <i>Noyaux et nucléoles</i>	219
2° <i>Cellules endocrines B</i>	219
3° <i>Cellules endocrines A</i>	221
C. — <i>Histochimie et activités enzymatiques</i>	221

CHAPITRE IV. — ETUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES SÉCRÉTRICES DU PANCRÉAS D'EMBRYON DE RAT. ORGANOGÈNESE	225
A. — Embryon âgé de 15 jours.....	225
B. — Embryon âgé de 17 jours.....	228
C. — Embryon âgé de 19 jours.....	231
D. — Embryon âgé de 21 jours.....	236
E. — Jeune Rat de 24 heures.....	240
F. — Jeune Rat de 7 jours	242
CHAPITRE V. — ETUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES SÉCRÉTRICES DU PANCRÉAS DE RAT DANS CERTAINES SITUATIONS PHYSIOLOGIQUES ET EXPÉRIMENTALES.....	244
A. — Rat affamé	244
B. — Rate gestante	246
C. — Rat alloxanisé.....	248
D. — Rat sulfamidé.....	251
E. — Rat surrénalectomisé.....	255
F. — Rat traité au cobalt.....	258
CHAPITRE VI. — ETUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES SÉCRÉTRICES DE FRAGMENTS DE PANCRÉAS DE RAT MIS EN CULTURE. EXPÉRIENCE DE PARABIOSE ET INSULOGENÈSE.	260
A. — Fragments de pancréas d'embryon de 16 jours.....	260
B. — Fragments de pancréas d'embryon de 18 jours.....	263
C. — Fragments de pancréas d'embryon de 20 jours.....	266
D. — Figures de dégénérescence.....	267
E. — Résultats obtenus en culture sur milieu standard, de fragments isolés de pancréas de Rat.....	267
F. — Pancréas endocrine fonctionnel en culture d'organe: expérience fondamentale de parabiose.....	268
CHAPITRE VII. — DISCUSSION.....	271
A. — Cytologie : cytoplasme et cellules sécrétrices pancréatiques.....	271
B. — Cytophysiologie	275
1° Etude de la sécrétion dans la cellule : appareil de Golgi, grains de sécrétion et excrétion	275
2° Origine des cellules endocrines	280
C. — Histochimie et activités enzymatiques : lipides et protéines sulphydrylées, zinc et insuline, activité phosphatasique, activité ribonucléasique	281
D. — Organogenèse	283
E. — Expérimentation et physiologie : alloxane, sulfamide, glandes surrénales	284
CHAPITRE VIII. — CONCLUSION	286
A. — Résumé des travaux effectués	286
B. — Contributions apportées, d'ordre :	
— technique	286
— cytologique	287
— en culture d'organe	287
— endocrinologique	287
— pharmacodynamique	288
C. — Perspectives de travail	288
BIBLIOGRAPHIE	289

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

A. — TRAVAUX DE LAGUESSE SUR LES SÉCRÉTIONS PANCRÉATIQUES

Dès 1904, LAGUESSE, dans la *Revue générale d'Histologie*, a défini les modalités des sécrétions pancréatiques.

Il distingue la sécrétion, qui appartient aux cellules exocrines, disposées chez l'adulte en acini autour d'une lumière excrétrice, de la sécrétion interne, endocrine, localisée au niveau de formations en forme d'îlots; ces derniers, baignant dans le parenchyme pancréatique, ont été mis en évidence anatomiquement par LANGERHANS dès 1869.

Après avoir défini ces deux catégories fonctionnelles de sécrétion, en les rattachant à deux types de cellules pancréatiques, LAGUESSE étudie les supports morphologiques de ces sécrétions dans la cellule. Il distingue deux aspects fondamentaux dans la sécrétion :

- l'excrétion (la sécrétion des physiologistes);
- l'élaboration de la sécrétion.

1° Sécrétion exocrine.

Il admet que le zymogène est le produit de l'élaboration de la cellule; il en étudie l'origine ainsi que les différents éléments qui participent à son élaboration, en particulier l'ergastoplasme. Il ne différencie pas de ce dernier, comme le fait son contemporain, MICHAELIS, des formations en bâtonnets (colorés vitalement par le vert Janus ou le rouge neutre), les mitochondries.

Il définit le mode sécrétoire mérocrine (la cellule ne disparaissant pas après la sécrétion), le rôle de soutien des cellules centro-acineuses (cellules en continuité avec les voies d'excrétion) et les voies d'excrétion de la sécrétion.

Dans son étude sur l'histogenèse du pancréas de Mouton (1895) à partir de l'ébauche pancréatique dorsale, il distingue cinq stades :

- 1° le diverticule pancréatique;
- 2° les cordons variqueux primitifs pleins;

3° les tubes pancréatiques primitifs ou îlots de Langerhans primaires;

4° les formations de cavités sécrétantes et de zymogène;

5° la lobation et la division des cavités sécrétantes, avec formation des îlots secondaires.

Il démontre l'origine épithéliale des cellules des îlots de Langerhans; leur constitution en pseudo-follicules et leur séparation de la portion tubuleuse. Ceci l'amène à rendre ces cellules responsables d'une sécrétion interne.

2° *Sécrétion endocrine.*

Les formes de transition acino-insulaire l'amènent à formuler la théorie du balancement (LAGUESSE, 1895).

Il précise l'existence d'îlots à aspect syncytial et certaines propriétés des grains de sécrétion endocrine, en particulier leur solubilité dans l'alcool, leur bonne fixation au liquide de Flemming ou au sublimé acétique, leur différence de propriété avec les grains de zymogène qui se traduit par un comportement physique différent en présence d'acide acétique, et en une coloration spécifique par la triple coloration safranine, violet de gentiane, orange G, après fixation osmiée.

Les grains de zymogène sont colorés en rouge, les grains insulaires en violet foncé. LAGUESSE rend, alors, les cellules insulaires responsables d'un matériel particulier de sécrétion.

Il souligne la présence constante de granules de graisse, en proportion considérable dans les cellules insulaires, qu'il trouve (comme DOGIEL en 1893) chez l'adulte et qui manquent chez l'embryon. D'emblée, à un faible grossissement, il reconnaît chez l'adulte l'îlot à un semis de granulations graisseuses.

Le problème des variétés cellulaires de l'îlot est posé. Après avoir admis la sécrétion interne dans les îlots, il apporte les preuves de leur rôle endocrine :

A. — PREUVES ANATOMIQUES. — Des cordons cellulaires pleins, séparés par de larges capillaires, sont décrits. Un matériel évident de sécrétion est accumulé au contact des capillaires. Des images d'élaboration et d'excrétion sont vues.

B. — PREUVES PHYSIOLOGIQUES. — LAGUESSE précise l'action régulatrice de ces formations sur la transformation des sucres. Dans les expériences de ligature du canal excréteur, les îlots demeurent, alors que les acini s'atrophient.

C. — PREUVES ANATOMO-PATHOLOGIQUES. — Des lésions insulaires sont fréquentes chez les diabétiques.

Ce travail représentait, en 1904, une mise au point remarquable et complète des connaissances relatives au support morphologique des sécrétions pancréatiques.

B. — PROGRÈS DES RECHERCHES SUR LA SÉCRÉTION PANCRÉATIQUE DEPUIS LES TRAVAUX DE LAGUESSE

Le progrès de certaines techniques, en particulier, la microscopie optique, l'histochimie et l'apport d'instruments nouveaux d'étude tels que le microscope électronique, ont permis une connaissance physiologique plus approfondie.

Des données biologiques nouvelles (isolement de l'insuline), un matériel expérimental élargi, et les progrès de la pharmacologie, ont permis à différents chercheurs de poursuivre des études complémentaires de ce problème.

1° *Cytologie.*

1° L'ergastoplasme. — L'ergastoplasme a été défini et étudié en microscopie optique depuis GARNIER grâce à sa grande affinité pour les colorants basiques (1900).

— Au niveau du pancréas, les histologistes admettaient son abondance dans les cellules exocrines, et son absence dans les cellules insulaires. L'usage de la microscopie électronique a permis de définir l'ultrastructure de cet organite et ses variations dans la cellule acineuse.

— Les études de WEISS (1953) et SJÖSTRAND (1953) sur les cytomembranes de la cellule acineuse de la Souris, ainsi que celles de PALADE, en 1956, chez le Cobaye, ont permis de définir morphologiquement l'ergastoplasme.

— Il est formé de deux constituants :

1° Doubles lamelles d'épaisseur moyenne de 80 Å, faiblement contrastées et séparées par un intervalle clair de 80 Å.

2° Granules de diamètre moyen de 140 Å de diamètre, de contraste dense, régulièrement disposés sur les bords externes des lamelles — ce sont les grains de Palade.

Un travail biochimique complémentaire, après fractionnement cellulaire, a permis à PALADE et SIEKIEWITZ (1956) de préciser que la composante granulaire était constituée d'ARN, et la composante membraneuse de lipoprotéines.

2° L'appareil de Golgi. — L'appareil de Golgi des cellules endocrines a pu être récemment étudié en microscopie optique, après imprégnations osmiques, chez le Rat. BATTS (1959) a décrit des modifi-

cations de cet appareil dans certaines situations physiologiques et expérimentales.

Ainsi, l'hyperglycémie provoque, au niveau des cellules B, l'élargissement de la zone de l'appareil de Golgi, en même temps qu'une augmentation de la complexité du réseau de dictyosomes.

Au contraire, l'hypoglycémie détermine des atrophies, et l'administration d'alloxane fait disparaître les formations golgiennes des cellules B.

L'appareil de Golgi des cellules exocrines a été étudié au microscope électronique par SJÖSTRAND et HANZON (1954), par DALTON et FÉLIX (1953).

3° Le chondriome des cellules exocrines. — Le chondriome des cellules exocrines a été étudié au microscope électronique. Les variations de structure du chondriome sont précisées par SJÖSTRAND (1953), SJÖSTRAND et HANZON (1954), chez la Souris, par PALADE (1952) chez le Cobaye.

Quant au chondriome des cellules endocrines, il fait l'objet d'une étude de microscopie optique, par BENSLEY (1911) chez le Cobaye et le Rat, et par SAGUCHI (1920) chez la Grenouille; ce dernier a fait une classification des catégories cellulaires, en fonction des variations d'aspects du chondriome.

4° Les grains de sécrétion. — A. — SÉCRÉTION EXOCRINE. — Les grains de zymogène, ou grains Z, ont été étudiés, surtout, au microscope électronique.

SJÖSTRAND (1953) a défini leur ultrastructure et leur rapport avec l'ergastoplasme. Il suggère leur formation à partir de vésicules golgiennes.

En 1958, PALADE étudie les grains de zymogène chez le Cobaye. Il soumet des animaux adultes à une expérimentation qui doit être favorable à leur étude, le jeûne. Les grains de sécrétion remplissent les cellules acineuses. Avec une alimentation précédant le sacrifice, il suit ainsi l'excrétion de la substance zymogène. Il admet ainsi le remplissage du grain de sécrétion par du matériau golgien. Mais, contrairement aux auteurs précités, il considère la paroi du grain Z d'origine ergastoplasmique.

B. — SÉCRÉTION ENDOCRINE. — Les grains de sécrétion endocrine ont fait l'objet d'une étude au microscope optique.

1° Grains B. — LAGUESSE, par sa coloration safranine, violet de gentiane, orange G, mettait déjà en évidence spécifiquement les grains insulaires (1906) (coloration violette).

BENSLEY (1911) a mis au point une coloration spécifique au violet de gentiane, après courte fixation au sublimé.

GOMORI (1939) a décrit une méthode de coloration sélective des grains B, par l'hématoxyline-phloxine, après oxydation.

A la suite de ces travaux, différentes variantes ont été décrites et nous retiendrons celle proposée, en 1950, par GOMORI, qui consiste à mettre en évidence ces grains par la fuchsine paraldéhyde, après oxydation permanganique (coloration pourpre).

2° *Grains A.* — GOMORI, en 1941, a également mis au point une technique permettant de colorer spécifiquement les grains A en rouge à l'azocarmin G, après oxydation.

Les grains de sécrétion endocrine ont été étudiés chez le Rat, le Lapin et le Chien, au microscope électronique, par LACY (1957). Il classe les différentes catégories cellulaires suivant les caractères ultrastructuraux de leurs granulations spécifiques.

2° *Histochimie.*

1° *Les acides nucléiques.* — La mise en évidence des acides nucléiques et, en particulier, de l'ARN a attiré l'attention de nombreux chercheurs. En général, ils utilisent la coloration au vert de méthyle-pyronine de PAPPENHEIM (1899).

BRACHET (1940) a codifié cette coloration. Il en a fait une réaction histochimique pour détecter l'ARN, grâce à des contrôles à la ribonucléase.

Certains auteurs et, en particulier, ALLARA (1953) sont d'accord pour admettre que, dans le pancréas des animaux normaux, l'ARN morphologiquement décelable (c'est-à-dire la fraction d'ARN insoluble, qui précipite au moment de la fixation) n'existe pas au niveau du cytoplasme des cellules endocrines.

Ce double résultat explique qu'on peut détecter les îlots par l'image en négatif obtenue dans la coloration de Pappenheim (coloration grise). La présence d'ARN au sein du cytoplasme acineux s'accorde avec la forte basophilie de ce dernier.

Dans certaines conditions expérimentales, des auteurs ont pu déceler, dans les cellules insulaires, une certaine quantité d'ARN. Ainsi, ALLARA, après injection de glucose, produit une certaine basophilie dans le cytoplasme des cellules B. Cette dernière disparaît après injection d'insuline.

Ces variations confirment le rôle déterminant de l'ARN dans la synthèse des protéines donné par BRACHET (1955). Ce rôle a été souligné au niveau des cellules sécrétrices du pancréas par CASPERSON, LANDSTROM et AQUILENIUS (1941) et par ALFREY, DALY et MIRSKY (1955).

2° *Grouperments —SH.* — L'insuline contient plusieurs groupements disulfurés (la cystine représentant 12 % de son poids) qui sont rendus responsables de son activité. L'on comprend ainsi que de nombreux auteurs aient étudié les protéines sulfhydrylées au niveau des îlots de Langerhans.

Le travail fondamental de BARNETT, MARSAHL et SELIGMAN (1955) permet de révéler histochimiquement l'insuline dans le pancréas en utilisant les techniques de détection des groupements —SH.

1° Réaction au ferri-cyanure ferrique de Chèvremont et Frédéric (1943).

2° Réaction au néo-tétrazolium de Gomori (1956).

3° Réaction au 2,2'dihydroxy-6,6'dinaphtyl-disulfide (DDD); cette réaction est spécifique des groupements —SH et sous certaines conditions de fixation (liquide de Romeis) reflète, au niveau des îlots, la présence d'insuline (Barnett et coll., 1954).

Ces trois auteurs sont arrivés à ce résultat en pratiquant à la fois des essais de coloration d'insuline *in vitro* et des colorations histologiques; la conservation de l'insuline, dans leurs coupes histologiques, est ainsi assurée.

Des essais préliminaires et des contrôles, faits en 1954 par BARNETT et SELIGMAN, garantissaient la spécificité de ces réactions dans leurs conditions de travail.

Ainsi, ils ont pu démontrer que dans le pancréas, si les cellules acineuses (et en particulier les grains de sécrétion Z) contenaient des groupements —SH, seules les cellules B des îlots étaient colorées, aussi bien le cytoplasme des cellules que les granulations. De plus, à leur niveau, l'intensité de coloration répondait à l'abondance de l'insuline.

Les auteurs ont également précisé ces variations, en fonction de certains états physiologiques ou expérimentaux.

Ils ont ainsi déterminé que, chez le Lapin, l'administration d'alloxane, de glucose, d'insuline, ou la faim diminuait la coloration des groupements —SH.

Ils ont enfin précisé que la coloration des granulations B à la fuchsine paralaldéhyde, laquelle ne colore pas l'insuline *in vitro*, n'était pas superposable, à l'étage organitique, à leur coloration spécifique (plus diffuse dans le cytoplasme), mais qu'elle correspondait de cellule à cellule.

3° Les lipides. — A. — Depuis DOGIEL et LAGUESSE, de nombreux auteurs ont trouvé des graisses au niveau des îlots de Langerhans. SAGUCHI (1920), chez la Grenouille, en trouve constamment dans les cellules B, et plus rarement dans les cellules A. NAKAMURA (1924), sur des coupes provenant de pièces de pancréas d'Homme colorées au soudan, décèle des lipides dans les îlots. ARCHETTI (1937) trouve des lipides dans les îlots de Langerhans chez le nourrisson. O'LEARY (1890) remarque chez la Souris des gouttelettes de graisse dans les îlots.

Plus récemment, BARRINGTON (1951) a mis en évidence des lipides dans les granulations spécifiques insulaires chez la Grenouille.

Une étude comparative avec d'autres méthodes de coloration (mitochondries et grains) a permis à BARRINGTON de considérer les granulations spécifiques comme des corps chromophiles, à la surface

desquels se trouvait une importante concentration de lipoïdes, colorables au soudan. Il a, par la suite, utilisé l'hématéine acide de Baker, pour l'identification des phospholipides, lesquels se trouvent au niveau des cellules B.

LACY (1954), usant du test à l'hématéine acide de Baker, détermine l'existence de phospholipides dans les cellules insulaires. VERNE et THÉRET (1956) trouvent également des graisses dans les ilots, plus nombreux dans les cellules A.

Cette bibliographie montre l'existence de graisses dans les ilots, mais, une analyse précise de ces graisses n'ayant pas été réellement effectuée, il paraît nécessaire d'aborder cette question par les méthodes histochimiques modernes et, en particulier, par la détection des lipides « structurés ».

B. — LIPIDES « STRUCTURÉS ». — La présence de lipides en grande quantité a été démontrée par des dosages après fractionnement cellulaire. Cependant, les méthodes histochimiques habituelles, si elles révèlent généralement les lipides figurés, ne décèlent qu'inconstamment et irrégulièrement les lipides structurés.

En effet, les propriétés physiques de ces derniers dans la cellule sont fonction de leurs liaisons physico-chimiques.

Aussi, les colorants généraux des graisses, les soudans sont-ils plus ou moins solubilisés par ces lipides; de même, les propriétés de dissolution de ces lipides dans les solvants organiques sont particulières et l'on distinguera, avec FOLCH et ses collaborateurs (1952) et comme PEARSE (1959) le répètera :

1° les protéolipides, qui conservent leurs propriétés de solubilité dans les solvants organiques;

2° les lipoprotéines, qui les ont habituellement perdues.

Récemment, quelques auteurs constatant ce fait se sont attachés à démasquer les graisses dans différentes structures cellulaires.

SERRA (1958), dans son étude sur les lipides masqués, a révélé la présence de lipides dans certaines structures. Il les colore par un mélange d'urée, de fixateur de Baker et d'alcool saturé de noir soudan.

BEREMBAUM (1958) codifie plusieurs techniques de détection de lipides structurés; il en fait une analyse en fonction de leurs propriétés spéciales. Il précise bien leur complexité et la variabilité des colorations dans chaque structure, fonction de leur force de liaison particulière. Il propose trois techniques de coloration; leur étude sur coupe à la paraffine est possible car ils sont résistants naturellement aux solvants organiques. Il étudie l'action des savons sur ces structures et, après avoir fait un diagnostic positif des lipides, il fait un diagnostic différentiel, en éliminant surtout les acides nucléiques, qui leur sont souvent associés.

GOSSNER (1958) utilise la deuxième méthode de BEREMBAUM qu'il trouve adaptée à la détection des lipides fortement liés. ACKERMAN (1952) met en évidence également des lipoprotéines au niveau des

cellules sanguines par une coloration au NSB après traitement préalable par des acides organiques (citrique, oxalique et formique).

Pour notre part, en 1957, nous avons proposé une technique histo-chimique de détection de graisses structurées, révélées au noir soudan B (NSB), après un traitement d'oxydation préalable qui les démasque.

Ainsi, au niveau des nucléoles d'Aggregata, parasite des Seiches, ou d'ovocytes de Grenouille, nous avons mis en évidence des graisses colorées au noir soudan B après oxydation préalable au lugol, sur des coupes provenant de matériel fixé au Helly et incluses à la paraffine.

En collaboration avec M^{me} POCHON (inédit), nous avons pu détecter des graisses au niveau de l'appareil de Golgi des glandes salivaires de Chironome, après oxydation préalable à l'acide périodique.

IDELMAN a trouvé des graisses dans les chromosomes de testicules de Criquet, après oxydation permanganique (1957 et 1958).

En collaboration avec M^{me} BROUSSE et IDELMAN (1958), nous avons détecté des graisses dans les grains de sécrétion des *corpora allata* d'Insectes.

4° **Le zinc.** — La présence de zinc dans la molécule cristallisée d'insuline a amené beaucoup d'auteurs à rechercher ce métal au niveau du pancréas.

Différentes méthodes ont été proposées :

ROBERT MC ISAAC (1955) a utilisé le ⁶⁵Zn en injection et a pu décrire chez le Rat sa répartition topographique par autoradiographie dans différents organes. Cette méthode lui a permis d'en trouver au niveau des îlots de Langerhans en plus grande quantité que dans les autres tissus.

OKAMOTO (1943) a détecté du zinc sur des tissus fixés par une coloration au diphénylthiocarbazon; les îlots sont colorés en rose. En 1949, OKAMOTO et, en 1950, KADOTA ont pu même réaliser un diabète expérimental en injectant de la dithizone. En 1952, STAMPEL, BAUMGARTEN, WOLFF et MASKE ont confirmé chez le Lapin ces résultats et démontré la formation d'un complexe de dithizonate de zinc au niveau des îlots, qui n'existe pas dans les acini.

Ces résultats ont montré aux auteurs qu'une coloration à la dithizone *in vivo* était supérieure à la coloration d'Okamoto sur pièce fixée. En effet, par cette méthode, les détails structuraux dans la cellule sont respectés et la coloration n'est pas diffuse. Ils ont pu ainsi mettre au point une technique de coloration intravitale spécifique du zinc (MASKE, 1957).

MASKE a pu préciser l'existence de zinc dans les îlots chez le Lapin, le Chien, le Rat, la Souris, le Chat, différents Poissons et chez l'Homme, par une méthode *post-mortem*. Seule, chez le Cobaye, cette réaction est négative.

VOIGT (1957) a également mis au point une technique de coloration de métaux lourds par formation de sulfure d'argent; au niveau du pancréas, la détection biochimique des métaux ayant montré la très

grande quantité de zinc par rapport aux autres métaux, VOIGT admet que la coloration qu'il obtient au niveau des îlots est probablement due au zinc.

Ces résultats chez différentes espèces et dans différentes situations physiologiques correspondent d'ailleurs, au niveau du pancréas, à ceux obtenus avec la dithizone.

3° *Activités enzymatiques.*

L'étude des activités enzymatiques a été abordée récemment sur des pièces de tissus ou des coupes, en transposant en histochimie les réactions caractéristiques définies en biochimie.

L'activité enzymatique est, dans ce cas, localisée topographiquement dans les tissus.

La transposition en histochimie a cependant rencontré des difficultés. En effet, en plus des données d'enzymologie pure (choix du substrat, tampon, activateur ou inhibiteur), se sont greffés de nouveaux problèmes propres à l'histochimie et souvent contradictoires : conservation des coupes et activités enzymatiques; pénétration de produits; absence de diffusion de la réaction; précipitation des produits obtenus; durée de réaction limitée; révélation colorimétrique.

De plus, les résultats essentiellement variables en fonction des conditions d'expérience et les fausses réactions provoquées par l'introduction de nouveaux produits dans la cellule rendaient l'interprétation délicate. Ces difficultés devaient être résolues, dans de nombreux cas, par des artifices techniques et surtout par l'usage de contrôles, garantissant la spécificité des réactions (inhibition, destruction d'enzyme, suppression de substrat).

Ainsi, dès 1939, GOMORI, d'une part, et TAKAMATSU, d'autre part, ont introduit une technique de détection de l'activité phosphatasique alcaline. Sur des coupes provenant de matériel fixé à l'acétone, ils utilisent le β -glycérophosphate de Na comme substrat, le calcium comme activateur et le véronal sodique 0,1M comme tampon alcalin, le phosphate de calcium comme précipitant et le sulfate de cobalt noir comme révélateur.

Les principes de cette technique, qui a subi de nombreuses variantes, sont utilisés aujourd'hui pour la détection des phosphatases alcalines. Cette méthode a permis de préciser l'existence de phosphatases alcalines au niveau des cellules A du pancréas, chez le Rat (GOMORI, 1941; DEMPSEY, 1948; NOBACK et MONTAGNA, 1947).

En 1941, GOMORI introduit également une technique de détection des activités phosphatasiques acides non spécifiques, en remplaçant dans la technique précédente le nitrate de calcium, soluble en milieu acide, par le nitrate de plomb. Cette technique est encore utilisée aujourd'hui.

L'usage des diazoïques en histochimie a permis à PEARSE et GROGG

(1952), après SELIGMAN et MANNHEIMER (1945), de mettre au point une technique de détection des phosphatases acides, après accouplement diazoïque.

Ces méthodes ont permis à GOMORI (1956) d'une part, et à GOSSNER (1958) d'autre part, de trouver une activité phosphatasique acide dans les cellules B du pancréas de Rat.

NOVIKOFF, en 1959, a essayé d'utiliser les techniques de détection d'activité phosphatasique au microscope électronique. Il traite de petites pièces de tissu rénal dans les bains d'incubation proposés par GOMORI et, après un lavage, les surfixe au Palade et les inclut au méthacrylate.

Au niveau du rein, NOVIKOFF obtient des résultats à l'échelle organitique.

La détection des activités estérasiques ou lipasiques a également fait l'objet de nombreuses études.

Nous citerons les techniques utilisant comme substrat le tween, proposé par GOMORI (1945), et surtout les méthodes d'accouplement diazoïque.

La technique, proposée par GOSSNER (1958), qui utilise comme substrat l'acétate de β -naphtol assez insoluble, lui a permis de préciser l'existence d'activités estérasiques au niveau des cellules A du pancréas de Rat.

4° *Expérimentation.*

1° Action sur les cellules B. — De célèbres expériences, réalisées par DUNN, MAC LETCHIE et SHEMAN (1943), ont montré que l'alloxane cause une destruction élective des cellules B, accompagnée d'une hyperglycémie importante et d'un diabète durable. Cette action, élective, est cependant soumise à des variations suivant l'espèce animale : chez les Oiseaux, par exemple, l'alloxane ne détermine pas de diabète; chez les Batraciens, l'action de l'alloxane est lente et incomplète. Chez le Cobaye, l'altération des cellules B est transitoire (DUBOIS, 1957).

Le mécanisme d'action de l'alloxane n'a pas été précisé, les hypothèses d'action de l'alloxane au niveau du zinc n'ayant pu être démontrées.

Nous signalerons dans ce paragraphe le rôle de l'alloxane, au niveau de certains systèmes enzymatiques cellulaires.

Ainsi, après les travaux d'ASHMORE, HASTING et NESBETT (1954) et de LONGTON et WEAKLEY (1955), l'on sait qu'au niveau du foie, l'alloxane accélère l'action de la glucose-6-phosphatase.

D'autres substances agissent au niveau des cellules, en particulier la dithizone (WOLFF et MASKE, 1952) et l'acide dialurique.

2° Action sur la cellule A. — VERNE, en 1949, obtient avec l'amanite phalloïde une destruction des cellules A.

VAN CAMPENHOUT et CORNELIS, dès 1951, par l'injection de sels de

métaux lourds chez le Cobaye, montrent une action cytoplasmique et, en particulier, l'action d'épuisement de la charge granulaire du cytoplasme des cellules A. Cette action est temporaire. Les cellules B restent inaltérées.

VUYLSTÈKE, CORNELIUS et DE DUVE, en 1952, précisent biochimiquement que cette action s'accompagne d'une diminution de la teneur en glucagon du pancréas (facteur HG).

L'action alphacytotoxique se manifeste également par une augmentation du nombre des cellules A, par un gonflement de ces cellules, dont le noyau reste normal, autour d'un cytoplasme apparemment vide. Cette réaction, reproduite avec de nombreux sels de cobalt (chlorure, nitrate) et de nickel (MOREL, 1953), est attribuée à l'ion métallique.

A côté de cet effet sur les cellules A, VAN CAMPENHOUT signale l'action polynésique et macronésique de ces sels métalliques au sein du pancréas : le nombre des îlots est multiplié par 3 ou 4, les dimensions de l'îlot augmentent. Il signale également l'existence de nombreuses transformations acino-insulaires (1958). L'auteur rapproche cette néoformation de tissus insulaires des phénomènes de stress dus à des agressions expérimentales variées et non spécifiques (castration, intervention sur le système neuro-sympathique) décrites par THÉRET (1953).

Nous signalerons enfin que VAN CAMPENHOUT décrit des images de mitose au niveau du cortex surrénal, après injections répétées de chlorure de cobalt et de calcite-tracemate disodique.

D'autres substances ont une action alphacytotoxique; nous citerons la synthaline qui, d'après DAVIS (1952), détermine en même temps une forte hypoglycémie et qui, pour VAN CAMPENHOUT, s'accompagne de nombreuses images de transformation acino-insulaire (1958).

3° Substances hypoglycémiantes. — Le mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiants (LOUBATIÈRES, 1955) est très controversé, et les différentes possibilités suivantes ont été proposées pour élucider ce mécanisme :

a) Inhibition de la sécrétion du glucagon et action alphacytotoxique. DAVIS (1952) et GEPTS (1957) ont décrit une dégranulation des cellules après injection de sulfamides. Cependant, les animaux à diabète alloxanique ne sont pas améliorés par l'administration de ces sulfamides.

D'autre part, les lésions histologiques des cellules A ne sont pas conséquentes. VAN CAMPENHOUT (1958) ne trouve même aucune lésion de cellule A, après injection quotidienne de 50 cg de nadisan, dose bien supérieure à celle de DAVIS et GEPTS.

L'auteur signale, par ailleurs, l'existence de cellules sans granulations, et une néogenèse insulaire très discrète.

b) Action sur les facteurs antagonistes de l'insuline : l'action hypoglycémiante intense des sulfamides chez les animaux hypophysectomisés ou surrénalectomisés élimine ce mécanisme.

c) Action au niveau du foie : il est probable que les sulfamides agissent au niveau du foie. Ils inhibent, certes les systèmes enzymatiques, opérant sur la transformation du glucose en glycogène.

Ainsi, il a été démontré par ASHMORE, CAHILL et HASTING (1956) que les sulfamides, *in vitro*, inhibent la glucose-6-phosphatase; mais, si cette action existe *in vivo*, il semble qu'elle joue un rôle secondaire.

d) Action insulino-mimétique : mais les sulfamides n'ont aucune action *in vitro* sur la vitesse d'assimilation du glucose dans le muscle.

e) Action stimulante au niveau des cellules B : LOUBATIÈRES soutient ce mécanisme, en précisant que les sulfamides activent la libération de l'insuline au niveau des cellules B. L'absence d'action des sulfamides chez l'animal alloxanisé renforce cette théorie.

D'autres substances ont une action hypoglycémiante, c'est le cas, par exemple, de la germanine (Bayer 205) et de l'acide déhydroascorbique.

5° Histogénèse.

LAGUESSE a montré l'intérêt de cette étude, elle lui a permis de définir la fonction endocrine des îlots de Langerhans.

Depuis, des études histogénétiques nombreuses ont été faites.

Nous citerons, chez les Mammifères, les travaux de VAN CAMPENHOUT (1925), de ARON (1920-1924), de NEUBERT (1927), de BARGMAN (1939). Le but de ces travaux était de préciser la valeur de la théorie du balancement de LAGUESSE et d'étudier une éventuelle activité sécrétrice chez l'embryon.

D'autres travaux de ARON (1931), de DEBEYRE (1927), de SIWE (1926), et surtout ceux de NEREMBERG (1954) et de HARD (1944) chez le Rat, se sont attachés à définir la formation de différentes cellules spécifiques insulaires.

Enfin, très récemment, certains auteurs ont abordé le problème en utilisant la microscopie électronique.

MUNGER, en 1958, a fait une étude des cellules acineuses et insulaires chez l'embryon de Souris, et FERREIRA, en 1957, a étudié les cellules insulaires, chez le Rat nouveau-né.

6° Culture d'organe.

Dès 1926, des essais sur milieu de culture histiotypique, pratiqués par KAPEL, ont montré que les cellules pancréatiques étaient digérées dans ces conditions.

En 1954, CHEN, élève de Miss FELL, fit des cultures organo-typiques par flottation de l'organe, reposant sur du « Lens paper », en contact avec un milieu nutritif liquide, très riche. La respiration du tissu étant

ainsi assurée par contact atmosphérique. Par cette méthode, CHEN a obtenu une survie du foie et également du pancréas.

En 1952, WOLFF et HAFFEN ont introduit un milieu nutritif solide. Leur milieu standard est moins riche que les milieux liquides précédents et assure la nutrition de l'organe par contact. La respiration se fait au contact de l'atmosphère.

De cette façon, les auteurs obtiennent, sur des explants nécessairement minces, une conservation de la structure organo-typique.

En 1954, BLACK et COMOLLI ont, par cette méthode, montré que le pancréas d'embryon de poulet, explanté *in vitro* entre 6 et 14 jours, est capable de survivre.

En 1960, DIETERLEN a montré la possibilité de cultiver du pancréas embryonnaire d'oiseau, après avoir fait une étude cytologique des cellules cultivées. DIETERLEN a démontré *in vitro* l'activité des cellules A cultivées par des expériences de parabiose hépatique.

CHAPITRE II

MATÉRIEL. TECHNIQUES ET MÉTHODES

A. — PANCRÉAS ÉTUDIÉS

Notre étude a porté sur la morphologie du pancréas de Rat dans différents états histogénétiques, physiologiques, expérimentaux et en culture d'organe.

1° *Forme type.*

Les pancréas de Rats adultes mâles apparemment sains, à jeun depuis 12 heures, ont été utilisés pour l'étude descriptive de la forme type. Les rats provenaient de l'élevage de la souche CF, fournis par le Centre de Sélection des animaux de laboratoire de Jif-sur-Yvette. Ces rats ont été soumis à un régime normal de biscuits, d'eau, de croûtes de pain et de salade; l'eau et les biscuits étaient fournis *ad libitum*.

Il est à signaler, ici, que nos critères d'étude concernant la morphologie du pancréas n'ont pas permis de trouver de différence avec les pancréas de même condition physiologique, provenant des souches de Long Evans ou Wistar qui, par la suite, ont pu être utilisés.

2° *Histogénèse.*

L'obtention de femelles gestantes, d'âge déterminé, a été réalisée avec la collaboration technique du personnel du Centre d'élevage. Il a été procédé de la façon suivante : des lots de femelles non gestantes sont mis aux mâles pendant une période de quarante-huit heures (deux par cage de 1 mâle), les femelles étant isolées après cette période. Ainsi, quatre périodes partant dans nos cycles d'expérience des jours 0 à 2, 2 à 4, 4 à 6 et 6 à 8, nous permettent d'obtenir le même jour quatre âges de grossesse, comptés à 24 heures d'erreur près, puisque nous admettons arbitrairement que les grossesses débutent 24 heures après l'accouplement. Le diagnostic de la gestation est fait le 19^e ou 20^e jour du cycle par la palpation abdominale : il est, en effet, dès le 13^e jour de la gestation, assez facile de saisir par le pincement des flancs abdominaux, à hauteur des épines iliaques antéro-supérieures, deux chaînes latérales de noyaux, représentant les embryons et disposées en chapelets, qui se différencient nettement des autres viscères abdominaux et en particulier des reins.

Au 22^e jour, les Rates gestantes sont sacrifiées par coup derrière la nuque et section de la tête, comme nous le verrons plus loin. Les embryons immédiatement prélevés sont laparotomisés et le pancréas extériorisé apparaît à la loupe binoculaire (Gt 10), sous la masse hépatique derrière l'estomac, accolé à la pulpe splénique à gauche, au cadre duodénal à droite.

La taille et l'aspect macroscopique du pancréas, que nous décrirons plus loin, nous ont permis un contrôle de l'âge des embryons.

Notre étude histogénétique a été complétée par l'examen de pancréas de jeunes Rats âgés de 24 heures et de 7 jours.

3° *Physiologie et expérimentation.*

1° Physiologie. — Notre étude a porté sur deux situations physiologiques particulières :

- a) gestation : des pancréas de Rates gestantes de 16 à 22 jours ont été étudiés ;
- b) jeûne : des Rats à jeun de 48 heures à 3 jours ont été utilisés, certains d'entre eux ont reçu un repas une heure avant le sacrifice.

2° Expérimentation. — Nous avons utilisé dans l'expérimentation des Rats apparemment sains (dont l'aspect extérieur est normal, de même que le comportement ; qui ne présentent pas de catarrhe et dont la peau est lisse). Ces Rats proviennent généralement de portées sœurs. Avant le sacrifice, l'état physique de l'animal est noté, en particulier les convulsions, l'état de choc, l'atonie musculaire, les troubles d'équilibration et l'état précomateux.

ALLOXANE. — Nous avons administré 300 mg par kg d'alloxane, par voie intrapéritonéale (IP). L'alloxane, poudre blanche, s'oxyde facilement en acide alloxanique de couleur rose et inactif. Aussi, pour avoir des résultats reproductibles, nous avons standardisé notre préparation : nous utilisons toujours de l'alloxane BDH, stabilisée dans une solution tamponnée à pH 4,6 (tampon phosphate-acide citrique), suivant la technique de Klebanoff et Greenbaum (1954). La dilution du produit permet d'injecter 1 cm³ à l'animal. Les Rats sont, après l'injection, soumis à un régime normal et les sacrifices suivent l'injection à des intervalles variables de 4 heures, 8 heures, 24 heures et 3 jours.

SULFAMIDES. — Nous avons injecté des sulfamides hypoglycémiantes par voie IP à la dose de 50 mg par kg par jour, pendant 5 jours. Le sulfamide utilisé est le 2259 RP, fourni en ampoules de 5 cm³ contenant 50 mg par cm³ de sulfamide.

Nous diluons ce produit dans une solution de bicarbonate de sodium, à pH 7,5, de manière à injecter 1 cm³ chaque fois.

Des Rats témoins ont subi également une injection de 1 cm³ de solution de bicarbonate par jour. Les Rats traités sont soumis au régime normal et sacrifiés habituellement 24 heures après la dernière injection.

COBALT. — Nous avons administré à des Rats de 6 semaines à 2 mois 15 à 20 mg de chlorure de cobalt, par voie sous-cutanée, dose répétée chaque jour, pendant 3 ou 4 jours.

Le CoCl₂ est en solution dans l'eau distillée à 40 %. La réaction physique des Rats à ces injections est variable, certains meurent dès la première injection, d'autres, dans un état précomateux, ne sont pas considérés. Ceux qui restent sont soumis au régime normal et sacrifiés 24 heures après la dernière injection.

ANIMAUX SURRÉNALECTOMISÉS. — Technique opératoire : les Rats anesthésiés, à l'éther ont subi la surrénalectomie bilatérale par voie dorsale, suivant la technique effectuée par BRITTON (1930).

Les Rats opérés sont maintenus au chaud et ont un biberon d'eau salée en supplément au régime normal. Le sacrifice a lieu 5 à 6 jours après l'intervention.

4° *Culture d'organe.*

Matériel. — Des embryons de 16, 18 et 20 jours ont été utilisés pour la culture d'organe. La mère est sacrifiée par coup derrière la nuque et section de la tête, les embryons sont prélevés immédiatement et mis dans du tyrode stérile et à 37°.

Technique de mise en culture. — Les opérations ont lieu en cabine stérile, une asepsie bactériologique étant de rigueur; les manipulations se font dans des bains de tyrode tièdes. Les embryons laparatomisés sont éviscérés, des fragments de pancréas très minces (100 à 200 μ d'épaisseur) de 1 mm de diamètre en moyenne sont posés sur le milieu nutritif de culture, solide, contenu dans des salières. Le milieu de culture standard de Wolff et Haffen (1952), utilisé généralement, comporte 6 parties de gélose, 3 de tyrode et 3 de jus d'embryon; le tyrode utilisé contient quelques unités de pénicilline. La mise en culture faite, les salières, recouvertes et fermées hermétiquement à la paraffine, séjournent à l'étuve à 37° pendant une durée de 3 à 4 jours; le lendemain de la mise en culture, un assèchement des fragments est effectué, également en cabine stérile.

Nous avons aussi cultivé en association des fragments de pancréas et de surrénale d'embryon de Rat; la technique utilisée est la même que celle que nous venons de décrire. La seule différence technique est que, dans la même salière, 2 à 3 fragments de pancréas et de surrénale sont associés en mosaïque.

B. — TECHNIQUE ET MÉTHODES D'ÉTUDE

1° Sacrifices et prélèvements.

En vue du sacrifice, les Rats sont assommés habituellement d'un coup derrière la nuque et ont la tête coupée. Aussitôt, nous procédons à une laparotomie. Des fragments de pancréas sont immédiatement prélevés au voisinage de la rate et plongés dans différents bains fixateurs. L'aspect macroscopique de l'organe, reconnaissable à sa forme arborescente et différencié du tissu cellulaire graisseux voisin, est noté.

Les prélèvements faits après anesthésie à l'éther ne nous ayant pas donné de différence selon nos critères d'étude, il nous est arrivé d'utiliser dans certains cas une anesthésie à l'éther avant le sacrifice.

Différents bains fixateurs nécessaires à la pratique des différentes techniques de cytologie optique et électronique, d'histochimie et d'activités enzymatiques, sont utilisés; ainsi, les fragments de pancréas sont fixés dans les liquides suivants :

- liquide de Palade (acide osmique à 2 %, tampon véronal à 7,4 l/1) (1952);
- formol calcium de Baker (formol neutre, eau distillée 10/90 + Cl_2 Ca 1 g) (1944);
- formol salé (formol neutre, eau isotonique 10/90);
- liquide de Romeis (solution aqueuse saturée d'acide picrique, solution aqueuse saturée de sublimé, formol neutre, acide acétique 40/45/10/5);
- mélange de Helly (Zenker, sans acide acétique, formol).

2° Etude cytologique au microscope optique.

1. — Coloration générale.

L'étude topographique du pancréas et l'étude du cytoplasme des cellules sécrétrices ont été faites, en utilisant la coloration générale de Mann à l'érythrosine et au bleu de toluidine (1894), coloration adoptée par DOMINICI en France.

TECHNIQUE. — Coupes provenant de matériel fixé 6 heures au Helly ou 24 heures au Romeis, inclus à la paraffine et débité à $5\ \mu$: 1° déparaffinées et hydratées; 2° colorées 5 minutes dans un mélange érythrosine-orange G; 3° rincées à l'eau distillée (ED); 4° colorées une demi-minute dans une solution de bleu de toluidine à 0,50 %; 5° rincées à l'ED; 6° différenciées dans une solution d'acide acétique, jusqu'à teinte pourpre des coupes; 7° passage à l'alcool à 95°; 8° alcool absolu, toluène et baume.

Résultats. — Le cytoplasme des cellules exocrines apparaît en bleu très basophile; les grains sont colorés en rouge. Le cytoplasme des cellules endocrines apparaît habituellement en négatif, gris; les noyaux sont colorés en gris bleu, le nucléole en bleu intense.

2. — Coloration des grains de sécrétion.

1° Grains de sécrétion exocrine. — Leur étude a été faite en utilisant la coloration trichrome, en un temps de Gabe et Martoja (1957).

TECHNIQUE. — Coupes provenant de matériel fixé au Helly ou au Romeis : 1° déparaffinées et hydratées; 2° plongées 10 minutes dans le mélange de Gabe-Martoja; 3° rincées à l'eau distillée; 4° déshydratées à l'AA, toluène et baume.

Résultats. — Les cellules exocrines ont leurs grains de sécrétion zymogène colorés en rouge, l'ergastoplasme est rose, les noyaux sont également rouges, les granulations A sont légèrement teintées en rouge et le cytoplasme des cellules B est gris.

2° Grains de sécrétion B. — Nous avons étudié la coloration à la fuchsine-paraldéhyde de Gomori (1950), sur des coupes provenant de matériel fixé au Helly ou au Romeis.

TECHNIQUE. — Coupes : 1° déparaffinées, collodionnées très légèrement et hydratées; 2° oxydées par le mélange de Gomori (MnO_4K à 2,5 %, SO_3H_2 5 %, ED 1/1/6); 3° blanchies par une solution de bisulfite de Na à 4 %; 4° lavées à l'ED, 30 minutes; 5° colorées par la solution de FPA; 6° différenciées à l'alcool CIH (AA, CIH 100/0,5); 7° rincées à l'eau ordinaire; 8° colorées à l'hématoxyline de Groat; 9° lavées à l'eau ordinaire; 10° AA, toluène et baume.

Résultats. — Les cellules B présentent des granulations colorées en violet pourpre, les noyaux sont colorés en bleu par le colorant de fond, le cytoplasme des cellules A reste clair, le cytoplasme des cellules exocrines apparaît rose.

3° Grains de sécrétion A. — Les grains de sécrétion des cellules A ont été étudiés par la coloration à l'azan de Heidenheim, suivant la méthode de Gomori (1941).

TECHNIQUE. — Les coupes provenant de matériel fixé au liquide de Romeis : 1° déparaffinées, collodionnées et hydratées; 2° colorées une heure à 60° dans la solution d'azocarmin G; 3° rincées à l'eau distillée; 4° différenciées par l'alcool aniliné; 5° passées à l'alcool acétique, 30 minutes; 6° lavées à l'ED; 7° mordancées, 30 minutes dans une solution à 5 % d'acide phosphotungstique; 8° lavées à l'ED; 9° colorées 30 minutes au mélange bleu de Heidenheim; 10° AA, toluène et baume.

Résultats. Les granulations A sont colorées en rouge, les granulations exocrines apparaissent également en rouge, le cytoplasme des cellules exocrines est bleu.

3° *Etude cytologique au microscope électronique.*

TECHNIQUE. — Les pièces très petites sont fixées 60 minutes à 4° C au liquide de Palade.

1° Inclusion : l'inclusion a été faite habituellement au méthacrylate, après déshydratation progressive à l'alcool suivant la technique de Newman et Borisko (1949). Plus rarement, l'inclusion au vestopal, après déshydratation à l'acétone, a été pratiquée suivant la technique de Ryter, Antoinette et Kellenberger (1958).

2° Le débitage des coupes a été pratiqué au microtome de Porter et Blum (1953), permettant d'obtenir des coupes de 600 Å d'épaisseur, recueillies sur grille de Formvar ou de carbone.

3° Pour obtenir des sections d'îlots de Langerhans, nous avons été obligé de procéder ainsi : une coupe, épaisse de 1 à 1,5 μ , est prélevée à la pince, placée sur une lame de verre et mise entre lame et lamelle, grâce à une goutte d'acétone; puis elle est regardée au contraste de phase, ce qui permet de préciser la topographie du tissu débité et, ainsi, de détecter les îlots de Langerhans.

4° La lecture des grilles s'est faite au microscope électronique RCA, permettant des grandissements directs de 3 500 à 40 000.

Méthode. L'étude cytologique au microscope électronique s'est limitée, dans un premier temps, à une étude descriptive de morphologie ultrastructurale.

L'observation au microscope électronique permet de distinguer quatre structures élémentaires; pour faciliter la suite de notre exposé, nous les décrirons toujours de la manière suivante :

- le grain avec son diamètre et son contraste;
- la membrane avec son épaisseur et son contraste;
- la vésicule avec son diamètre, son contenu et sa membrane;
- la substance amorphe avec son contraste.

Le contraste a été classé arbitrairement de la manière suivante : clair (pour une absence de contraste), faible, assez faible, moyen, fort et très contrasté. Le contraste ne préjuge pas forcément de l'osmophilie (FAVARD et CARASSO, 1957).

L'organisation de ces structures élémentaires, suivant certaines formes et ordonnances morphologiques, aboutit aux organites cellulaires. Dans notre matériel, certains organites apparaissent bien définis. Ils seront codifiés pour la cellule pancréatique par leurs caractéristiques.

C'est le cas :

- des grains de sécrétion;
- des mitochondries avec leurs crêtes (SjöSTRAND et HANZON, 1954);
- des grains de Palade, morphologiquement définis dans le pancréas par leur diamètre moyen de 100 à 150 Å et leur contraste fort (PALADE, 1953 et 1955);

de l'ergastoplasme avec ses doubles lamelles, épaisses de 80 Å, à contraste moyen, séparées d'intervalle de 80 Å et flanquées, sur leur bord externe, de grains de Palade régulièrement disposés, comme SJÖSTRAND et HANZON l'ont défini dans le pancréas (1954);

— de l'appareil de Golgi, avec ses trois constituants (SJÖSTRAND et HANZON, 1954) :

- a) les paquets de saccules formés dans le pancréas, de quelques saccules (2 à 4) à membranes lisses, fines, contrastées, aplaties et empilées;
- b) les petites vésicules situées aux extrémités des saccules, de diamètre variable de 100 à 300 Å, entourées de membranes minces correspondant à celles des saccules.
- c) les grosses vésicules ou vacuoles que coiffe souvent un paquet de saccules, de diamètre variable de 100 à 800 Å, à contraste clair et entourées d'une membrane souvent mal définie et peu contrastée;

des noyaux cellulaires et de la plupart des nucléoles, structurés et formés d'une substance très contrastée, entourant des cavités à contraste clair, donnant des images en fromage de gruyère.

— des membranes nucléaires et plasmiques.

Dans tous ces cas, nous nous sommes attaché pour chaque situation étudiée à décrire qualitativement l'organite, bien défini :

— par une analyse de ses différents constituants;

— par une étude d'ensemble suivant son siège, sa forme, son abondance et ses rapports avec les organites voisins.

Cette étude nous a amené à rencontrer, dans le cytoplasme des cellules, des ensembles organisés, non codifiés. Dans ce cas, lorsqu'une identité morphologique les rapproche d'un organite ou d'une de ses composantes, nous nous sommes borné à en faire la comparaison.

Après avoir fait cette étude strictement descriptive, qui complète les données de cytologie optique, nous nous sommes efforcé, dans un deuxième temps, de rattacher les données morphologiques à cette échelle ultrastructurale, aux données histochimiques, enzymatiques et physiologiques.

4° *Etude histochimique.*

Notre étude histochimique a été fragmentaire, elle a eu pour objet essentiel d'apporter un support aux données de la morphologie.

1. — *Détection de l'ARN.*

Nous avons utilisé la coloration de Pappenheim, au vert de méthyle pyronine (VMP), mise au point par BRACHET en 1940 qui en a fait une réaction histochimique de détection de l'ARN.

TECHNIQUE (variante de Brachet) :

- 1° Coupes provenant de pièces fixées au Helly, déparaffinées et hydratées.
- 2° Colorées par le mélange de VMP pendant 10 minutes.
- 3° Rincées très rapidement à l'ED.
- 4° Déshydratées à l'AA.
- 5° Toluène et baume.

Le mélange de VMP a été préparé de la manière suivante :

- Vert de méthyle de Gurr : 0,15 g.
 Pyronine de Gurr : 0,25 g.
 Phénol : 0,50 g.
 Alcool à 95° : 2,5 cm³.
 Eau distillée : 100 cm³.
 Glycérine : 20 cm³.

Résultats. — Les structures cellulaires contenant de l'ARN, morphologiquement décelables, sont colorées en rouge pourpre par la pyronine. Il est évident que seul l'ARN précipité dans la fixation, c'est-à-dire l'ARN insoluble, est mis en évidence; l'ARN soluble, que les bains fixateurs solubilisent, de faible poids moléculaire, n'est pas morphologiquement accessible.

Ainsi, le cytoplasme des cellules exocrines, riche en ergastoplasme, est coloré en rouge; les noyaux sont généralement bleus.

Spécificité. — Nous avons contrôlé dans notre matériel la spécificité de cette réaction, en faisant passer préalablement des coupes témoins dans un bain contenant une solution de ribonucléase à 1 pour 10 000, tamponnée à pH 7, à l'étuve à 37° pendant une heure. Les coupes témoins ne présentent pas de coloration rouge dans leur cytoplasme.

2. — Détection de lipides « structurés ».

1° Réaction fondamentale. — TECHNIQUE. — Les coupes provenant de matériel fixé au formol de Baker, et débitées à 15 μ à la congélation : 1° rincées à l'ED; 2° oxydées 5 minutes dans le mélange de Gomori; 3° blanchies au bisulfite de sodium à 2 %; 4° lavées à l'eau pour éliminer l'excès de bisulfite; 5° colorées 20 minutes à une demi-heure dans une solution noir soudan B à saturation dans l'alcool à 60°; 6° lavées rapidement à l'alcool à 60°; 7° rincées dans l'eau et montées au sirop d'Apathy. Un colorant de fond comme le rouge nucléaire solide de Domagk peut être utilisé.

Résultats. Les cellules B ont un cytoplasme électivement coloré en noir, plus ou moins intensément; le cytoplasme des cellules A est clair, celui des cellules exocrines est gris-violet; les noyaux sont colorés en rouge par le colorant de fond.

Spécificité. — La coloration au noir soudan (NSB), introduite par LISON et DAGNELLI (1935) et utilisée sur coupes fixées au formol-calcium par BAKER (1944) et Mc MANUS (1946), colore en noir spécifiquement les graisses.

Nous pouvons éliminer l'impureté non spécifique de couleur brune,

contenue dans ce colorant et signalée, dès 1954, par LILIE, qui montre que le noir soudan B donne, à côté de la coloration noire spécifique des graisses, une coloration grise aberrante, due à la présence de composés basophiles; FRIEDRICKSON, en 1958, a identifié par la chromatographie cette impureté brune à affinité basophile, produit de décomposition du noir soudan B en milieu acide, et différente du colorant noir spécifique des graisses. En effet :

1° La coloration obtenue dans les cellules B est bien noire et non grise.

2° Le noir soudan acétylé, comme le précise LILIE, qui ne contient pas l'impureté, colore en noir les cellules B; le noir soudan acétylé a été préparé, suivant le procédé proposé par LILIE en 1954.

3° Comme PEARSE (1959) l'a montré, à pH très acide, l'impureté devient rouge; la coloration noire des cellules B persiste cependant à ce pH.

2° *Identification du liquide contenu dans le cytoplasme des cellules.*

Les réactions d'identification des phospholipides, selon le schéma de Pearse (1954), montrent que ce lipide fait partie des phospholipides et plus généralement des lipines.

1° La réaction à l'hématéine acide de Baker (1946) est positive.

TECHNIQUE. — Pièces fixées au formol-calcium 12 heures, mises dans un bain de bichromate de calcium à 5 %, 18 heures à la température ambiante, puis 24 heures à 60° et lavées à l'ED; débitées à la congélation en coupes de 15 μ , les coupes sont plongées dans un bain de bichromate de calcium à 5 %, une heure à 60°, lavées à l'ED, colorées dans la solution d'hématéine acide à 37° pendant 5 heures, rincées à l'ED, différenciées au mélange borax ferri-cyanure, 12 heures à 37°, lavées à l'eau et montées au sirop d'Apathy.

Résultats. — Le cytoplasme de cellules B est coloré en gris plus ou moins intensément, le cytoplasme des cellules A est clair, le cytoplasme des cellules exocrines est jaune.

2° La réaction à l'acide périodique Schiff (PAS), pratiquée sur coupes provenant de matériel fixé au formol de Baker et débitées à la congélation, colore également en rouge le cytoplasme des cellules B; les cellules A restent incolores et les cellules exocrines sont colorées en rose pâle; de même, les réactions à l'acide peracétique Schiff, pratiquées sur coupes à congélation, sont positives au niveau du cytoplasme des cellules B.

3° La réaction mettant en évidence la métachromasie suivant la méthode de Feyrter (PEARSE, 1954), pratiquée avec une solution de violet de crésyl à 0,5 %, contenant 1 % d'acide tartrique, montre que le cytoplasme des cellules exocrines est violet, alors que le cytoplasme des cellules B apparaît coloré métachromatiquement en rose pâle, le cytoplasme des cellules A est clair et incolore.

4° L'absence de coloration du soudan III en solution alcoolique à saturation ou de l'Oil Red 4 B, en solution saturée dans l'alcool isopropylique (LILIE, 1944), est utilisée pour la détection des graisses

neutres (PEARSE, 1954). Comme l'a conseillé PEARSE, les phospholipides étant résistants aux colorations des soudans en solution alcoolique, nous avons pratiqué la technique de GOVAN, décrite par PEARSE (1954). Nous utilisons les soudans en solution colloïdale, permettant ainsi aux colorants une meilleure solubilité dans les phospholipides. Par cette méthode, après oxydation préalable au mélange de Gomori, le cytoplasme des cellules B montre de fines gouttelettes rouges, alors que le cytoplasme des cellules A est incolore et le cytoplasme des cellules exocrines rose pâle.

3° Ces phospholipides se présentent dans la cellule sous forme de lipoprotéines structurées. a) Le cytoplasme des cellules B se colore en noir, si on utilise la méthode B de Berembaum de détection des lipides structurés.

b) Leurs propriétés de solubilité sont particulières, ce qui est le propre des lipides liés formant des complexes lipoprotidiques dans la cellule.

1° A l'état frais, ces lipides sont solubles dans les fixateurs contenant des solvants organiques, alcool, acétone; ils sont également solubles dans le formol salé; le formol-calcium de Baker permet de les conserver et modifie leur propriété de solubilité, de même les solvants aqueux à base de chlorure mercurique.

2° Fixés dans le formol de Baker ou dans le Helly, et ainsi dénaturés comme les protéines, leurs propriétés à l'égard des solvants organiques sont modifiées :

— les solvants organiques ne les dissolvent plus et ainsi, sur coupes à la paraffine, la réaction fondamentale au noir soudan B est positive, cependant la réaction est moins intense que sur coupes à la congélation;

— après oxydation permanganique, ils sont encore insolubles dans l'alcool et l'acétone anhydres; partiellement insolubles dans la pyridine anhydre à 37 % utilisée par FOLCK et coll. (1951) pour dissoudre les liposites du cerveau.

3. — *Détection des protéines sulphydrylées.*

Le travail fondamental réalisé par BARNETT et SELIGMAN (1954) a guidé nos recherches concernant les protéines sulphydrylées.

Nous avons pratiqué la réaction de Chèvremont et Frédéric au bleu de Turnbull et la réaction au néotétrazolium de Gomori, sur des coupes provenant de pièces fixées au Romeis et préalablement réduites au sulfure d'ammonium.

TECHNIQUE DE CHÈVREMONT ET FRÉDÉRIC (1943). — Les coupes sont : 1° déparaffinées, collodionnées et hydratées; 2° réduites dans un bain de $S(NH_4)_2$ pendant 3 heures à la température ordinaire; 3° lavées abondamment à l'ED; 4° plongées 5 minutes dans un bain préparé extemporanément et contenant une solution de ferri cyanure de K à 1 % et une solution de chlorure ferrique à 1 à 1/1; 5° lavées

10 minutes dans des bains d'ED, le fond est coloré au rouge nucléaire solide; 6° après lavage à l'eau courante, les coupes sont déshydratées à l'AA, éclaircies au toluène et montées au baume.

Résultats. — Les structures contenant des groupements —SH ou —S—S— (transformées en —SH par la réduction préalable) se colorent en vert; ainsi le cytoplasme des cellules B, les grains zymogènes des cellules exocrines et, plus légèrement, le cytoplasme des cellules exocrines apparaissent colorés en vert. Par contre, le cytoplasme des cellules A reste clair, les noyaux sont colorés en rouge par le colorant de fond.

TECHNIQUE AU NÉOTÉTRAZOLIUM DE GOMORI. — Les coupes sont : 1° déparaffinées, collodionnées et hydratées; 2° réduites dans un bain de $S(NH_4)_2$ pendant 3 heures à la température ordinaire; 3° lavées abondamment à l'ED; 4° plongées une heure et demie dans un bain colorant de Gomori au néotétrazolium; 5° lavées abondamment à l'eau; 6° plongées 3 minutes dans l'hématoxyline de Groat, utilisée comme colorant de fond; 7° lavées à l'eau, déshydratées à l'AA, éclaircies au toluène et montées au baume.

Le bain colorant se prépare ainsi :

Cyanure de sodium	1,5 g
Eau distillée	15 cm ³
Acide acétique N/10	15 cm ³
Tampon Borax à pH 6,7	20 cm ³

bain auquel on ajoute 5 cm³ d'AA, contenant 20 mg de néotétrazolium.

Résultats. — Les structures contenant des groupements —SH— sont colorées en pourpre; ainsi, le cytoplasme des cellules B, les grains Z et le cytoplasme des cellules exocrines apparaissent pourpres, les noyaux sont colorés en bleu.

Spécificité. — Ces deux réactions ne colorant pas spécifiquement les groupements —SH, des contrôles ont été pratiqués; des coupes témoins sont plongées pendant 8 heures à 38° dans une solution à 1 % de chlorure mercurique, en vue de bloquer les groupements sulfhydrylés, avant d'être mises dans les bains colorants. Dans ces conditions, les structures n'apparaissent plus colorées au niveau du cytoplasme des cellules B, des grains Z et du cytoplasme des cellules exocrines.

4. — Détection du zinc au niveau du pancréas.

Deux techniques ont été pratiquées pour la détection du zinc :

I. — **TECHNIQUE** proposée par MASKE (1957), colorant le zinc à la dithizone *in vivo*. — **Technique** (variante de Maske) : chez le Rat anesthésié à l'éther et laparotomisé, on injecte par voie intraveineuse lente, au niveau de la veine cave inférieure, 100 mg par kg de dithizone, préparée ainsi : 100 mg de dithizone Merck sont dissous dans un mélange de 1 cm³ d'AA, auquel on a ajouté 4 gouttes de NH_4OH concentré; cette solution mère est diluée 10 fois dans l'ED. L'animal survit assez bien à cette injection; 5 minutes après cette injection, on sacrifie l'animal et on prélève le pancréas; celui-ci est débité à frais à la congélation en coupes de 20 à 30 μ que l'on fixe par des vapeurs osmiques avant le montage à la glycérine.

Résultats. — La dithizone colore en rouge les granulations des cellules A, en bordure de l'îlot; les cellules B et les cellules exocrines ne sont pas colorées, chez le Rat.

Spécificité : la dithizone forme un complexe métallique rouge avec le zinc, mais également avec d'autres métaux; MASKE (1957) a cependant démontré, par des procédés spectrophotométriques, que dans les conditions normales la coloration rouge obtenue au niveau du pancréas était due au zinc.

II. — TECHNIQUE mise au point par VOIGT (1958). — Technique : les pièces sont fixées dans l'alcool à 70° saturé de SH_2 ; après inclusion à la paraffine, les coupes débitées à 5 μ sont : 1° déparaffinées et hydratées; 2° colorées par le mélange de Voigt, formé de :

— gomme arabique à 40 % : 40 cm^3 ;

— NO_3AG à saturation dans solution de SO_3NA_2 à saturation : 1 cm^3 ;

— hydroquinone à 2 % : 1 cm^3 .

On suit cette coloration au microscope. Au bout d'un certain temps, les structures contenant un métal lourd apparaissent en noir. On arrête alors la coloration par un lavage à l'eau courante; on colore le fond au rouge Domagk, on lave à l'eau et monte au sirop d'Apathy.

Résultats. — Au niveau du pancréas, les granulations A des cellules A en bordure de l'îlot sont colorées en noir; les résultats obtenus par cette coloration sont superposables à ceux obtenus avec la dithizone. Il est à signaler que cette méthode est différente des méthodes d'imprégnation argentique de Cajal, qui imprègnent plus ou moins les différentes silhouettes cellulaires et qui colorent les cellules A et également certaines cellules B dans le pancréas.

La coloration de Voigt est due, au contraire, à une réaction chimique, l'argent déplaçant le métal lourd est révélé en noir par la formation de sulfure d'argent.

Spécificité. — Cette technique de coloration d'un métal lourd divalent n'est pas spécifique du zinc; cependant, la grande quantité de zinc, par rapport aux autres métaux dans le pancréas, permet de dire que la coloration obtenue est probablement due au zinc.

5° Etude des activités enzymatiques.

Remarque préliminaire. — Il est à noter que cette étude n'a pas seulement pour but de déceler la présence d'enzymes dans les structures, mais d'en étudier la cinétique, l'activité relative des enzymes *in situ* et dans nos conditions d'expérience. Cette remarque a deux conséquences :

1° Certains enzymes présents dans les cellules ne seront pas décelés dans nos expériences, parce que leur activité, faible ou rendue faible par nos manipulations (fixation), n'est pas assez rapide pour s'exprimer dans notre réaction.

2° Nous devons opérer dans des conditions standards et toujours par rapport à des témoins, les résultats étant essentiellement relatifs, seules sont comparables les activités enzymatiques de pièces ayant subi le même traitement, dans une même expérience.

1. — *Etude des phosphatases acides non spécifiques (P₂).*

Nous avons pratiqué deux techniques :

1° Technique de Gomori (1941). — **TECHNIQUE.** — Des coupes provenant de pièces fixées au formol salé à la glacière 24 heures, et débitées à 30 μ à la congélation, sont plongées dans un bain d'incubation à 37°, pendant 2 heures; le bain utilise le β -glycérophosphate de Na 0,01 M comme substrat, le tampon acétate-acétique à pH 5, et contient 0,01 % de nitrate de plomb. A la sortie du bain, les coupes sont lavées une minute à l'ED, puis colorées dans une solution de $S(NH_4)_2$ à 1 %, une minute; après lavage à l'eau ordinaire et une coloration de fond facultative (rouge Domagk), les coupes sont montées au sirop d'Apathy.

Résultat. — L'activité P2 se manifeste par une coloration noire qui, au niveau du pancréas, apparaît dans les noyaux des cellules B, dans le cytoplasme des cellules B et, très légèrement, dans les noyaux des cellules exocrines; le cytoplasme des cellules A et des cellules exocrines ne présente pas d'activité P2 dans nos conditions d'expérience.

Il est à noter que, si les coupes sont sorties du bain d'incubation après un séjour d'une demi-heure, dans nos conditions d'expérience, seuls les noyaux des cellules B sont révélés en noir par le sulfure d'ammonium.

Spécificité. — Des contrôles nécessaires pour l'interprétation de cette réaction ont été pratiqués :

a) des coupes ont été plongées dans un bain d'incubation ne contenant pas de substrat; ces coupes témoins, après passage au $S(NH_4)_2$, ne donnent aucune coloration des cellules B, ce qui élimine l'effet plomb;

b) des coupes ont été chauffées à 80° pendant une minute avant de séjourner dans le bain d'incubation; aucune coloration des cellules B n'est encore obtenue dans ces conditions, l'activité P2 ayant été détruite.

2° Technique de Grogg et Pearse (1952). — GROGG et PEARSE ont proposé une méthode d'accouplement diazoïque pour détecter les P2.

TECHNIQUE. — Les pièces provenant de matériel fixé 12 heures au formol salé à 4° C, et débitées à la congélation à 15 μ , sont montées sur lames et collées par séchage à la température ordinaire pendant une heure. On verse sur les coupes le mélange préparé extemporanément de la façon suivante :

Naphtylphosphate de Na	20 mg
Tampon véronal acétique de Michaelis à pH 5	20 mg

auxquels on ajoute 20 mg de Fast Red Salt RC (Gurr). On agite et on filtre le mélange sur les coupes sèches. La durée d'incubation est d'environ une demi-heure; ensuite, on lave une minute à l'eau courante et on monte au sirop d'Apathy.

Résultats. Au niveau du pancréas, l'îlot apparaît en rouge : il est formé de cellules B centrales, contenant des granulations rouges cytoplasmiques; les cellules exocrines et les cellules A ne sont pas colorées; les noyaux ne montrent pas d'activité dans cette réaction.

3° NOVIKOFF (1954) propose une adaptation de la technique de Gomori à la microscopie électronique pour la détection des phosphatases, à l'échelle organique. Nous avons pratiqué cette technique au niveau du pancréas.

TECHNIQUE DE NOVIKOFF. — De petits fragments très minces, fixés au formol salé, 2 heures à 4°; ces fragments, après un lavage rapide dans l'eau, sont plongés dans le bain d'incubation de Gomori pendant 2 heures; à leur sortie, ils sont lavés dans l'eau, surfixés au Palade 15 minutes et inclus au méthacrylate. Les blocs sont débités en coupes ultramines.

Résultats. L'activité P2 est révélée par la présence du Pb d'aspect très particulier et contrasté. Ainsi, l'activité P2 est apparue dans nos conditions d'expérience au niveau des noyaux des cellules endocrines B, de façon diffuse, et au niveau du cytoplasme des cellules B; ici, l'activité était localisée dans des anneaux limitant des vésicules de 150 à 200 nm, un peu plus larges que la taille des grains de sécrétion B. Ces derniers n'apparaissent pas sur nos coupes, dissous à la fixation. Par cette méthode, les cellules exocrines n'ont montré aucune activité dans leurs noyaux et leur cytoplasme.

Spécificité. — Des pièces témoins, qui ont subi le même traitement, mais qui ont été plongées dans un bain d'incubation sans substrat, ont permis d'éliminer l'effet plomb; en effet, dans ces conditions, les cellules B ne présentent plus de structure contrastée.

2. — Etude des activités phosphatasiques alcalines (P₁).

Nous avons utilisé la méthode au cobalt calcium, suivant la technique de Gomori (1939).

TECHNIQUE. — Les pièces fixées au formol salé à froid sont débitées à 20 μ à la congélation; les coupes sont plongées dans un bain d'incubation contenant :

β -glycérophosphate de Na à 3 %	10 cm ³
Eau distillée	20 cm ³
Tampon véronal calcium	50 cm ³

pendant 2 heures à 37°.

A la sortie du bain, les coupes sont lavées à l'eau ordinaire une minute, traitées 5 minutes dans une solution de nitrate de cobalt à 2 %, lavées à l'eau et révélées au S(NH₄)₂, une minute; après coloration, les coupes sont lavées et montées au sirop d'Apathy.

Résultats. Dans nos conditions d'expérience, les cellules endocrines A sont colorées en noir, les cellules endocrines B et les cellules exocrines ne montrent pas d'activité P1.

Spécificité. — Des contrôles sont également pratiqués avec des coupes plongées dans un bain sans substrat; les cellules A des témoins ne sont pas colorées.

3. — Etude des activités ribonucléasiques.

La technique que nous avons utilisée a été mise au point par nous, en collaboration avec POCHON et DE GARILHE. L'activité ribonucléasique a été éprouvée dans un bain, contenant comme substrat de l'ARN de levure, commerciale et lyophilisée.

TECHNIQUE. — Les coupes proviennent de matériel fixé une demi-heure au formol salé à froid et débitées à la congélation à $30\ \mu$; elles sont allongées 18 heures à 37° dans le bain d'incubation, préparé de la manière suivante :

Tampon véronal de Michaelis à pH 7	30 cm ³
Nitrate de plomb	10 mg

Ce mélange est filtré et on y ajoute 3 cm³ de solution d'ARN à 0,1 %.

Résultats. — L'activité ribonucléasique est localisée au niveau des îlots de Langerhans dont les cellules apparaissent colorées plus ou moins complètement en noir; cette activité n'existe pas au niveau des cellules acineuses, en dehors d'une fine bordure apicale.

Spécificité. — 3 bains d'incubation accompagnent la réaction pour assurer sa spécificité. Un premier bain sans substrat, un deuxième bain contenant du RNA à 1 %, inhibiteur de la ribonucléase; un dernier bain contient du glycérophosphate de Na à 1 %. Les coupes témoins, plongées dans ces bains, n'ont pas donné de coloration des îlots.

Un contrôle biochimique supplémentaire a précisé que l'ARN ne se dégradait pas spontanément en oligonucléotides, dans nos conditions d'expérience.

Activité phosphodiéstérasique : elle a été recherchée dans les mêmes conditions, le substrat étant cette fois le calcium bis (p-nitrophényl) phosphate (PRIVAT DE GARILHE et LASKOWSKI, 1955). Les plages d'activité sont superposables à celles de l'activité ribonucléasique; l'optimum d'action est à pH 7,5.

4. — Etude des activités estérasiques.

Nous avons recherché l'activité estérasique, en utilisant la méthode de diazotation, suivant la technique de Gomori (1950).

TECHNIQUE. — Les coupes proviennent de matériel fixé au formol 2 heures et débité à la congélation; les coupes sont montées sur lames et séchées à la température ordinaire 15 minutes pour y adhérer. On y verse le mélange filtré, formé extemporanément de :

— solution de naphthol acétate AS à 1 % dans l'acétone : 0,1 mml;

— tampon phosphate 0,05 M à pH 7 : 10 mml.

On agite et on ajoute 10 mml de Fast Red RC; on filtre sur la coupe. L'incubation se fait à la température ordinaire pendant 30 minutes; après ce délai, on lave à l'eau courante et on monte au sirop d'Apathy.

Le naphтол acétate AS se prépare en dissolvant 5 g de naphтол AS de Gurr dans 10 cm³ de pyridine, avec 20 cm³ d'anhydride acétique. On chauffe sans réfrigération une heure. On verse de l'eau, on filtre et on garde le filtrat pâteux obtenu. On le recristallise dans l'alcool, pour obtenir l'acétate sous forme de poudre colorée en crème.

Résultats. — L'activité estérasique se manifeste par une coloration rouge. Au niveau du pancréas, cette coloration rouge apparaît dans les cellules A : leur cytoplasme contient de nombreuses granulations rouges. Les cellules B n'ont pas d'activité estérasique. Au niveau des cellules acineuses, seule la portion apicale présente des granulations rouges, le cytoplasme apparaissant clair.

CHAPITRE III

ÉTUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES SÉCRÉTRICES DU PANCRÉAS DE RAT ADULTE PRIS COMME TYPE DE DESCRIPTION

Le pancréas apparaît macroscopiquement de couleur gris rosé, assez étale et épais, mêlé à du tissu cellulaire adipeux lâche.

A. — MICROSCOPIE OPTIQUE

Cellules exocrines.

Une coloration au Mann Dominici montre des formations arrondies de 10 à 20 μ de diamètre. Elles sont les unes à côté des autres et formées de cellules disposées en rayon de roue. Le cytoplasme de ces cellules apparaît bleu et basophile à la partie basale surtout. Cependant, quelques cellules à gros noyau restent claires dans les acini : ce sont les cellules centro-acineuses.

La coloration trichrome fait apparaître, au pôle apical des cellules acineuses, les grains de sécrétion rouges, assez nombreux, arrondis en billes et, à la partie basale, le cytoplasme coloré en rose.

Cellules endocrines.

Une coloration au Mann Dominici montre au sein du parenchyme pancréatique les îlots, en gris; ils ne sont pas colorés, ce sont des formations le plus souvent arrondies, parfois ovalaires ou même allongées en boudin. Ils ont une dimension moyenne de 100 μ ; à leur voisinage, se trouve souvent un gros vaisseau. Ils sont généralement entourés d'acini. Les cellules, qui composent les îlots, sont ordonnées en travées le long des nombreux capillaires.

Une étude cytologique permet d'y définir deux catégories cellulaires principales chez le Rat adulte normal :

1° Les cellules B au centre de l'îlot sont généralement plus petites

que les cellules exocrines; elles sont polygonales et leur noyau est arrondi et gros, elles sont plus nombreuses (80 % en moyenne) que les cellules A, situées à la périphérie de l'îlot.

2° Les cellules A sont plus petites que les précédentes; souvent fusiformes ou angulaires, elles présentent un noyau irrégulier et gros.

De plus, des coupes, provenant de pièces fixées à l'acide osmique, montrent que le cytoplasme des cellules centrales est jaune foncé, dense et opposé à la couronne claire des cellules périphériques.

Enfin, chacune de ces deux catégories cellulaires possède des granulations spécifiques en histologie. En effet, la coloration à la fuchsine paraldéhyde fait apparaître électivement en pourpre les granulations des cellules B centrales; ces granulations B se présentent habituellement groupées au pôle vasculaire des cellules. Au contraire, la coloration à l'Azan fait apparaître électivement en rouge, les granulations des cellules périphériques, dites granulations A.

B. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

Cellules exocrines.

1° *Les acini.* — Ils apparaissent séparés les uns des autres. Les espaces interacineux sont formés de deux membranes basales appartenant chacune à un acinus et d'épaisseur moyenne de 500 Å. Moyennement contrastées, ces membranes sont séparées par un intervalle moyen de 700 Å : c'est dans cet espace que cheminent les capillaires, çà et là, on rencontre quelques fibroblastes, ainsi que quelques structures fibrillaires.

L'acinus est formé de deux types cellulaires, qui délimitent la lumière acineuse à son centre :

- la cellule sécrétrice proprement dite;
- la cellule centro-acineuse.

2° *La lumière acineuse.* Elle est remplie de substance amorphe, plus ou moins homogène, à contraste variable moyen ou assez faible. Elle est bordée d'un double feuillet; celui-ci est composé d'une membrane propre et des membranes plasmiques des cellules qui l'entourent. La paroi est irrégulière et présente des microvillosités en doigt de gant, ponts de substance cytoplasmique, qui apparaissent en coupe comme des circonférences ou des végétations. La taille et le nombre de ces villosités sont variables. Au niveau des cellules centro-acineuses, la paroi de la lumière est moins accidentée. Les végétations sont en rapport direct avec les grains de sécrétion apicaux des cellules sécrétrices.

3° *La cellule centro-acineuse* (pl. V). -- Parfois mêlées aux cellules sécrétrices, en quartiers, les cellules centro-acineuses apparaissent le plus souvent dans la lumière, couchées sur les cellules sécrétrices. Elles sont habituellement isolées, parfois groupées en paquets de 2 à 7; leur cytoplasme est clair et ne contient pas de système membraneux; on y rencontre quelquefois un appareil de Golgi, formé essentiellement de 2 à 7 grosses vésicules à diamètre moyen $0,2 \mu$, sur lesquelles reposent, en coup d'angle, 1 ou 2 petits saccules aplatis et empilés, terminés de rares petites vésicules aux extrémités.

On y trouve également quelques mitochondries arrondies, de taille moyenne, de diamètre moyen $0,2 \mu$; elles sont formées d'une double membrane, à contraste assez dense, et d'un centre clair, où apparaissent parfois, en petits filets moyennement contrastés, les crêtes. Ces mitochondries sont disposées autour d'un gros noyau, à substance claire, homogène, et l'on peut y trouver un nucléole central.

4° *La cellule sécrétrice ou cellule exocrine* proprement dite est bordée d'une membrane plasmique à contraste dense et d'épaisseur moyenne de $70 \text{ \AA}$, délimitant des espaces intercellulaires de $130 \text{ \AA}$ en moyenne.

A. — LE CYTOPLASME. — Il contient un réseau membraneux : l'ergastoplasme (pl. I, fig. 2).

Il est formé de lamelles doubles, d'épaisseur moyenne de $80 \text{ \AA}$ et de contraste assez faible, qui délimitent un intervalle clair de $80 \text{ \AA}$ en moyenne. Ces lamelles sont flanquées, sur leur bord externe, de grains à contraste dense, de diamètre moyen de $140 \text{ \AA}$, régulièrement disposés, séparés les uns des autres par un intervalle de 300 à $500 \text{ \AA}$ en moyenne : ce sont les grains de Palade. Parfois, ces doubles lamelles s'écartent, formant des dilatations ampullaires; d'autres fois, la section de la cellule présente une vésicule entourée sur son bord externe de grains de Palade : c'est une « cisternæ ergastoplasmique ».

L'ergastoplasme est dispersé dans toute la cellule, très abondant surtout dans la région basale autour du noyau, où ses feuilletts sont très serrés et distants d'espaces de $500 \text{ \AA}$ en moyenne, contrastés assez faiblement et homogènes. Il existe également dans la région supranucléaire de la cellule, où les cisternæ sont plus nombreuses.

Rapports : l'ergastoplasme délimite dans le cytoplasme deux phases : la première apparaît claire et vide entre les lamelles, et la deuxième est formée d'un fond contrasté assez faible, où se situent les grains de Palade, les mitochondries et, habituellement, les grains de sécrétion.

Au niveau de l'appareil de Golgi, l'ergastoplasme disparaît; on le trouve cependant à la périphérie golgienne.

Au niveau des grains de sécrétion ou grains Z, situés dans l'espace cytoplasmique contrasté, l'ergastoplasme est assez abondant, il entoure même parfois les grains Z d'une membrane externe serrée, qui est souvent confondue avec la membrane propre du grain.

Au niveau du noyau, les rapports sont souvent intimes et il arrive de rencontrer la substance nucléaire en contact direct avec l'espace cytoplasmique contrasté; la membrane nucléaire et l'ergastoplasme semblent alors se confondre par endroits.

B. — L'APPAREIL DE GOLGI (pl. I, fig. 1). — Il est toujours situé dans la région supranucléaire de la cellule. Il est formé de plusieurs éléments, les dictyosomes (PERRONCITO, 1910). Ces derniers apparaissent au microscope électronique constitués par :

- 2 à 3 saccules aplatis et empilés, de 0,5 à 1 μ de long en moyenne; chaque saccule apparaît à la section formé d'une paire de membranes lisses se rejoignant à leurs extrémités renflées, d'épaisseur fine, 60 Å en moyenne, et très contrastées; ces membranes lisses sont parfois légèrement ondulées et délimitent un espace de diamètre moyen de 120 Å et faiblement contrasté;

- de petites vésicules, situées habituellement aux bords des saccules, peu nombreuses, de diamètre moyen de 200 à 300 Å, entourées d'une membrane fine, lisse et contrastée; ce sont les *vésicules osmiophiles* (GRASSÉ, CARASSO, FAVARD, 1956);

- de grosses vésicules, coiffées parfois par le paquet de saccules: elles ont un diamètre moyen de 200 à 500 m μ , leur centre est clair et la membrane lisse qui l'entoure est mal définie, le plus souvent assez épaisse et à contraste faible; ces vésicules sont parfois isolées, ou bien groupées en paquets de 2 à 3. C'est la substance chromophobe.

Les dictyosomes reposent habituellement sur un fond de substance faiblement contrastée.

L'appareil de Golgi, situé dans la région supranucléaire de la cellule, est entouré à son contact de grains de sécrétion et de mitochondries.

L'ergastoplasme est le plus souvent vésiculaire à son pourtour.

Le noyau présente parfois à son niveau une échancrure, et en est séparé par quelques feuilletts ergastoplasmiques.

C. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION OU GRAINS Z (pl. I, fig. 1) sont situés dans la région apicale de la cellule et apparaissent arrondis ou ovales, d'un diamètre moyen de 0,4 à 0,6 μ ; ils sont faits d'une substance homogène à contraste moyen, parfois dense, ils sont entourés d'une fine membrane à contraste dense et d'épaisseur moyenne de 60 Å. Cette membrane, qui est bien visible dans les coupes très fines, ou provenant de pièces incluses au vestopal, est lisse; cependant, ses rapports avec les grains de Palade de l'ergastoplasme lui donnent parfois un aspect granité.

Les grains de sécrétion sont en rapport direct avec les membranes plasmiques qui, au niveau de la lumière acineuse, forment des végétations intimement liées aux grains.

L'appareil de Golgi, autour duquel ils sont disposés, est en contact immédiat avec eux.

Les mitochondries sont mêlées aux grains de sécrétion et peu nombreuses à leur niveau.

L'ergastoplasme entoure parfois ces grains, leur formant alors une membrane externe (PALADE, 1958).

Nous signalerons une forme particulière de grains que l'on trouve dans certaines cellules, mêlés aux autres grains : ce sont les grains formés d'une substance claire ou nulle, vides de leur contenu et formés essentiellement d'une membrane.

D. — LE CHONDRIOME (pl. I, fig. 2), réparti dans tout le cytoplasme cellulaire, est cependant plus abondant sur les côtés; il est fait le plus souvent de mitochondries ovalaires, grandes et massives, de diamètre moyen de $0,5\ \mu$. Ce sont des mitochondries caractéristiques; elles sont entourées d'une double membrane bien visible et moyennement contrastée; leur centre est clair, taché irrégulièrement et traversé par de longues crêtes, apparaissant également formées de doubles membranes. Certaines sections permettent de suivre la crête dont le trajet est sinueux, d'un bout à l'autre de la mitochondrie.

E. — LE NOYAU. — Il est situé à la partie basale de la cellule, le rapport N/P est plus petit que 0,5; la membrane nucléaire, également double, est bien tracée et présente un diamètre moyen de $140\ \text{\AA}$. Ce noyau, arrondi, présente une substance centrale assez claire et contient souvent un nucléole structuré. Ses rapports ont lieu essentiellement avec l'ergastoplasme qui l'entoure.

Cellules endocrines.

1° *La cellule endocrine B* (pl. III, fig. 1 et 2). A. — LE CYTOPLASME. — Il est dense et fait d'une composante membraneuse importante.

Contrairement à ce que nous avons vu pour la cellule exocrine, cette composante membraneuse est mal ordonnée. Le plus souvent, sur un fond de substance amorphe à contraste faible et mal délimité — ce qui donne à la cellule un aspect sale —, on trouve de petites membranes lisses à contraste moyen ou dense, d'épaisseur variable de 40 à $80\ \text{\AA}$, parfois doubles et alors séparées par un intervalle rempli de la substance de fond. Le bord de ces membranes est lisse et, au niveau des grains de sécrétion, elles semblent se continuer avec les membranes externes, qui entourent les grains.

D'autres fois, les membranes apparaissent plus épaisses et moins denses.

Enfin, on rencontre dans certaines cellules B, surtout au rebord de la cellule ou près du noyau, de véritables fragments de lamelles ergastoplasmiques, sur lesquels l'on trouve encore régulièrement disposés, mais assez espacés, les grains de Palade.

Très rarement, on remarque quelques grains de Palade isolés ou en petits paquets.

B. — L'APPAREIL DE GOLGI. — Il est fait de nombreux dictyosomes, disposés largement en collier autour du noyau. Ils se composent :

1° De quelques petits saccules (2 à 3, rarement davantage), aplatis et empilés, reposant sur un fond de substance homogène et assez faiblement contrastée; leur longueur moyenne est de 0,5 μ . Ils sont constitués de deux membranes lisses, à contraste dense et d'épaisseur moyenne de 30 Å, qui se rejoignent à leur bout souvent renflé.

2° De petites vésicules, situées au voisinage des extrémités des saccules, de diamètre variable de 200 à 300 Å, elles sont formées d'une membrane d'épaisseur moyenne de 50 Å et contrastée.

3° De vacuoles ou de grosses vésicules, moins grandes que celles rencontrées dans les cellules exocrines, leur centre est clair et la membrane qui les entoure mal définie, et faiblement contrastée; elles sont parfois isolées, mais le plus souvent groupées en paquets de deux ou trois.

L'appareil de Golgi, dispersé dans le cytoplasme, est au voisinage des mitochondries et des grains de sécrétion, qui sont disposés à sa périphérie et qui semblent polarisés par lui.

C. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION. — Ils sont groupés près du pôle capillaire de la cellule, arrondis, de diamètre moyen en 150 à 200 $m\mu$, et faits d'une substance homogène à contraste dense, difficile à percevoir.

Ces granulations sont également entourées d'une membrane fine, à contraste moyen et de diamètre de 80 Å, en moyenne, qui semble se prolonger en dehors par le réseau cytoplasmique. Cette membrane délimite une cavité dans laquelle se trouve le grain de sécrétion, elle en est séparée par un intervalle clair de 50 à 200 Å en moyenne.

Ces grains, situés habituellement à un pôle de la cellule, voisin des capillaires, sont en rapport direct avec les parois de ces derniers.

On les trouve mêlés aux mitochondries, avec lesquelles ils forment de petites populations voisines des appareils de Golgi et intimement liés à eux.

D. — LE CHONDRIOME. — Il est formé de chondriocontes plus ou moins coudés et souvent filamenteux; on trouve également des mitochondries assez petites, arrondies, de 200 $m\mu$ de diamètre moyen, formées d'un bord épais et contrasté et d'un centre irrégulièrement clair.

D'assez longues crêtes transversales les traversent.

Le chondriome repose sur un fond de substance cytoplasmique amorphe.

E. — LE NOYAU. — Le noyau des cellules B, disposé souvent au centre de la cellule, est arrondi, régulier et assez gros, le rapport N/P est plus grand que 0,5. La membrane nucléaire est assez fine. Le noyau présente parfois un petit nucléole.

2° *La cellule endocrine A.* — A. — **LE CYTOPLASME.** — Il est clair, on n'y trouve pas de système membraneux; il est formé de quelques ponts de substance amorphe à contraste assez faible. Ils suivent des trajets reliant les organites qui y reposent, et délimitent ainsi des espaces cytoplasmiques vides de substance.

B. — **L'APPAREIL DE GOLGI.** — Les dictyosomes sont moins nombreux et plus petits que dans les cellules B. Sur un fond de substance à contraste assez faible, les saccules (2 ou 3) aplatis et empilés, formés de membranes lisses et contrastées, sont terminés par quelques rares petites vésicules et entourent une ou deux vacuoles. Situé souvent à côté du noyau, l'appareil de Golgi présente à son voisinage des grains de sécrétion et des mitochondries.

C. — **LES GRAINS DE SÉCRÉTION ET LES MITOCHONDRIES.** — Arrondis, de 150 à 200 μ en moyenne de diamètre, les grains de sécrétion sont faits d'une substance homogène et très contrastée; ils semblent présenter une membrane propre, difficile à percevoir; ils reposent sur un fond de substance cytoplasmique, mais qui ne présente pas généralement à leur niveau de membrane externe.

Le chondriome: il est fait de quelques chondriocontes allongés et de quelques petites mitochondries, mêlées aux grains de sécrétion dans le cytoplasme.

D. — **LE NOYAU.** — Il est irrégulier, parfois polylobé, le rapport N/P est plus grand que 0,5. Il présente rarement un nucléole.

C. — ÉTUDE HISTOCHIMIQUE

1° *ARN.* — La coloration au VMP montre le cytoplasme des cellules exocrines en rouge, surtout à leur base. A l'objectif, immersion, le cytoplasme apparaît parfois feuilleté. Le noyau est coloré en bleu-vert.

Les cellules endocrines ont un cytoplasme gris et un noyau coloré en bleu.

Le test à la ribonucléase, précédant la coloration, fait disparaître la pyroninophilie du cytoplasme des cellules acineuses.

Ces résultats nous autorisent à admettre qu'il n'y a pas d'ARN morphologiquement décelable dans les cellules insulaires.

Par contre, le cytoplasme des cellules acineuses est riche en ARN.

2° *Lipides « structurés ».* — I. — La coloration au noir soudan B après oxydation, suivie de la coloration de fond au rouge Domagk, donne les résultats suivants :

a) Cellules B: le cytoplasme des cellules est coloré en noir, plus ou moins intensément suivant les cellules. Cette coloration est diffuse

dans le cytoplasme, mais, à l'immersion, des granulations soudanophiles apparaissent près du pôle capillaire. Cette coloration persiste lorsqu'on utilise le noir soudan acétylé ou le noir soudan en solution très acide. Le noyau des cellules est coloré en rouge.

b) Cellules A : leur cytoplasme apparaît vide et les cellules forment une couronne claire autour de l'îlot.

c) Cellules exocrines : leur cytoplasme apparaît coloré en violet, plus ou moins intensément à la base de la cellule. Cette coloration disparaît lorsqu'on utilise une solution de noir soudan acétylé.

II. — *La coloration à l'hématéine acide de Baker* fait apparaître le cytoplasme :

- des cellules B en gris;
- des cellules A, incolores;
- des cellules exocrines, jaunes à la base.

III. — *La réaction au violet de crésyl selon Feyrter* colore métachromatiquement en rose pâle le cytoplasme des cellules B.

Le cytoplasme des cellules A n'est pas coloré.

Le cytoplasme des cellules exocrines prend une coloration violette.

IV. — *La coloration Hotchkiss Mac Manus (PAS)* sur coupe à la congélation de matériel fixé au formol de Baker montre le cytoplasme des cellules B coloré en rouge. Les cellules A restent claires, les cellules exocrines apparaissent en rose pâle.

V. — *La coloration à l'Oil Red 4 B*, dans les conditions expérimentales de Govan, montre les cellules B en rouge; l'îlot apparaît en rouge en son centre et incolore à la périphérie, les acini apparaissent en rose pâle.

À l'immersion, la coloration rouge des cellules B apparaît diffuse et granulaire.

Ces résultats nous autorisent à admettre :

- que le cytoplasme et également les grains de sécrétion des cellules B du pancréas contiennent des lipides structurés;
- que ces lipides sont identifiés histochimiquement en phospholipides.

Nous avons vu, dans le chapitre précédent, les différentes propriétés de solubilité de ces lipides contenus dans les cellules B.

3° *Protéines sulfhydrylées.* — I. — *La réaction de Chèvremont* montre le cytoplasme des cellules B coloré, plus ou moins intensément en bleu de Turnbull; à l'immersion, certaines granulations apparaissent également colorées dans ces cellules.

Les cellules A ne sont pas colorées.

Les cellules exocrines ont un cytoplasme également bleu-vert, et les grains Z surtout sont colorés intensément.

II. — *La réaction au néotétrazolium*, suivant la technique de Gomori, montre le cytoplasme des cellules B coloré en rouge pourpre, cette coloration est diffuse et concerne également les grains B. Les cellules A ne sont pas colorées.

Le cytoplasme des cellules exocrines et surtout les grains prennent fortement la coloration.

Ces résultats, en même temps que l'absence de coloration des coupes traitées préalablement au sublimé, nous autorisent à admettre, comme BARNETT et SELIGMAN (1954) l'ont montré, que les cellules B du pancréas contiennent des protéines sulfhydrylées au sein de leur cytoplasme et de leurs granulations.

ZINC. — Au niveau du pancréas, la réaction de Voigt au sulfure d'argent et la technique à la dithizone *in vivo* de Maske montrent l'existence de métal lourd au sein des granulations A.

Ces deux techniques superposables au niveau du pancréas ne colorent ni les cellules B, ni les cellules acineuses.

Ce métal lourd peut être identifié au niveau du pancréas comme du zinc.

D. — ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

1° *Phosphatases acides*. — I. — L'activité phosphatasique acide, recherchée par la technique de Gomori, a été détectée, dans nos conditions d'expérience, au niveau des noyaux et du cytoplasme des cellules B. L'îlot apparaît noir et est déjà visible à l'œil nu.

Les cellules A ne sont pas colorées, les cellules acineuses non plus.

II. — La méthode de Pearse, par diazotation, ne relève l'activité phosphatasique acide qu'au niveau du cytoplasme des cellules B.

III. — Le microscope électronique, également, permet de retrouver sur les coupes traitées, suivant la technique de Novikoff, une activité phosphatasique acide diffuse dans les noyaux des cellules B ainsi que dans certaines structures cytoplasmiques en forme de sphères d'environ 120 m μ dans ces mêmes cellules.

2° *Phosphatases alcalines*. — L'activité phosphatasique alcaline a été détectée au niveau des cellules A en bordure des îlots et, plus faiblement, au niveau des noyaux des cellules exocrines.

3° *Ribonucléases et phosphodiesterases*. — Les activités ribonucléasiques et phosphodiesterasiques ont été recherchées chez le Rat adulte. Dans nos conditions d'expériences au niveau des îlots, l'activité a été décelée de façon variable. Dans de nombreux îlots, les cellules A et B,

cytoplasme et noyau apparaissent uniformément colorés. D'autres montrent une activité plus nette des cellules périphériques; quelques rares îlots enfin ne montrent pas d'activité. Au niveau des acini, seule la partie apicale des cellules, près de la lumière excrétrice, est colorée.

4° *Estérases*. — L'activité estérasique, recherchée suivant la technique de Gossner, a été détectée, de façon assez diffuse, au sein des cellules A, en bordure des îlots.

Les cellules B ne présentent pas d'activité estérasique.

Au niveau des cellules acineuses, seule la partie apicale présente une activité estérasique.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES PANCRÉATIQUES DE L'EMBRYON DE RAT ORGANOGENÈSE

A. — EMBRYON AGÉ DE 15 JOURS

Le premier stade étudié est le pancréas de fœtus, âgé de 15 jours; sa taille est de $1,7 \text{ cm} \pm 0,2$. Le pancréas n'apparaît pas différencié macroscopiquement à la loupe binoculaire; sa situation permet cependant de le prélever : on pince l'estomac qui, tiré, fait apparaître, en dessous et en arrière de lui, une masse géliforme, qui contient le pancréas.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

Une coloration générale de microscopie optique, le Mann Dominici, montre ce tissu formé de quelques sections tubulaires, avec parfois quelques cordons cellulaires, mêlés au sein d'un parenchyme mésenchymateux lâche; ce sont les tubules primitifs de Laguesse.

Les cellules mésenchymateuses apparaissent petites, à cytoplasme clair vésiculaire, et séparées d'intervalles intercellulaires lâches.

La paroi des tubes est constituée par un épithélium formé de cellules prismatiques, clair, peu colorable et disposé sur une seule assise; parfois, cependant elle s'épaissit pour former de petits cordons cellulaires.

Les cellules exocrines forment ces cordons; à ce stade, il n'existe que rarement une petite lumière, autour de laquelle sont disposées les cellules; cette lumière est alors vide et ne contient pas de villosités. Habituellement, les cordons sont pleins et les cellules sont disposées en rayons de roue.

Les cellules endocrines ont leur cytoplasme qui apparaît basophile, coloré en bleu au Mann Dominici : ce sont les cellules « troubles » de Laguesse, qui donnent les cellules insulaires; on les rencontre sur la

paroi des tubes, isolées et mêlées aux cellules épithéliales, les débordant ou groupées déjà en amas de quelques cellules polygonales. Ce sont alors les « Insel potent » de Foerner et Stockenius (1950). Ces cordons insulaires ne présentent pas de réseau capillaire. Les colorations à la fuchsine paraldéhyde et à l'Azan montrent l'absence de granulations spécifiques. Les cellules apparaissent colorées uniformément en gris à la fuchsine paraldéhyde.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines (pl. VI, fig. 1).

1° *Le cytoplasme.* Il apparaît généralement sans système membraneux, il n'y a pas d'ergastoplasme ; seuls quelques cisternæ et quelques petites doubles membranes, flanquées de grains de Palade, de 100 à 300 Å de diamètre, se rencontrent dans la région supranucléaire de la cellule. Le cytoplasme est plus généralement formé de granulations à diamètre moyen de 140 Å et à contraste dense, reposant sur un fond de substance amorphe, faiblement contrasté et correspondant à la définition des grains de Palade (p. 204) ; ces granulations sont isolées ou, le plus souvent, groupées en paquets de deux ou trois, reposant sur la substance amorphe et formant des figures coudées ou en bâtonnets ; on trouve également, dans la région supranucléaire, à côté des grains de Palade, de petites vésicules de diamètre moyen de 200 Å, entourées d'une membrane fine à contraste moyen. Il faut signaler à ce stade l'existence, à la base des cellules, de corpuscules étoilés ; on ne les rencontre que dans quelques cellules et ils sont considérés par MUNGER (1958) comme des corpuscules lipidiques.

2° *L'appareil de Golgi* (pl. 6, fig. 1). Il existe à ce stade, caractérisé par sa topographie supranucléaire et l'osmiophilie de sa substance chromophile, contrastant avec le reste du cytoplasme plus clair. Les dictyosomes apparaissent comme des formations rectangulaires de 80 à 100 μ de long, de 50 à 80 μ de large, faites d'un fond de substance faiblement contrasté, dans lequel l'on trouve de petites vésicules de diamètre moyen de 250 Å, à membrane fine et assez contrastée. Ces vésicules sont rangées le plus souvent en une ou deux lignes parallèles, et donnent des images analogues aux saccules. À l'intérieur de ces formations rectangulaires, on trouve parfois des grains à contraste dense de 140 Å de diamètre ; les petites vésicules correspondent aux microvésicules golgiennes osmiophiles.

Ces formations rectangulaires coiffent souvent des vésicules de diamètre moyen, 100 à 300 μ , et correspondent à la substance chromophile des dictyosomes. La membrane de ces vésicules est faiblement contrastée et d'épaisseur moyenne de 80 Å. Leur centre est clair à

contraste nul. Elles correspondent aux vacuoles golgiennes; elles ne se différencient morphologiquement des cisternæ ergastoplasmiques, voisines, que par l'absence de grains de Palade à leur pourtour.

Nous n'avons pas rencontré de formations sacculaires à ce stade.

3° Les grains de sécrétion. — Ils n'existent généralement pas à ce stade.

4° Le chondriome. — On le trouve déjà à cet âge plus abondant dans la région supranucléaire. Il est formé, dans cette région, surtout de mitochondries arrondies, à membrane épaisse, dont le centre est formé d'une substance irrégulièrement contrastée, traversée par de longues crêtes transversales.

5° Le noyau. — Le noyau est très gros; le N/P est plus grand que 0,5; la membrane nucléaire est très épaisse et contrastée; la substance nucléaire est dense et contient un ou deux nucléoles centraux et structurés.

2° Cellules endocrines (pl. VIII, fig. 1).

1° Le cytoplasme. — Le cytoplasme, peu abondant en bordure du noyau, apparaît, à cet âge, dense et formé de granulations identifiées morphologiquement par leur contraste dense et leur diamètre moyen de 140 Å, aux grains de Palade; ces granulations sont isolées ou, le plus souvent, groupées en paquets et mêlées à de petites vésicules de diamètre moyen de 250 Å; il n'y a pas de système membraneux à ce stade; cependant, on trouve quelques cisternæ ergastoplasmiques, entourées de grains de Palade.

2° L'appareil de Golgi. — Les dictyosomes sont groupés à ce stade à côté du noyau. Leur osmiophilie les fait reconnaître dès un faible grossissement: ils apparaissent comme des traînées grisâtres plus ou moins vacuolisées, tranchant avec le reste du cytoplasme plus clair. Leur étude ultrastructurale permet de préciser l'abondance de microvésicules osmiophiles comme au niveau des cellules exocrines de même âge. A ce stade, la substance chromophile apparaît formée de vésicules assez petites de 50 à 100 mμ.

3° Les grains de sécrétion. — Il n'existe pas de grains de sécrétion à ce stade.

4° Le chondriome. — Il est formé de quelques mitochondries, dispersées dans le cytoplasme et arrondies.

5° Le noyau. — Il est très gros et occupe presque toute la cellule; sa membrane est épaisse et il présente souvent un nucléole.

III. — HISTOCHIMIE

1° *ARN* : la réaction au vert de méthyle-pyronine colore le cytoplasme des cellules exocrines, mais également celui des cellules endocrines, en rouge; les noyaux apparaissent colorés en rouge.

2° *Lipides structurés* : le cytoplasme des cellules exocrines et endocrines ne prend pas, à cet âge, la coloration au noir soudan B.

3° *Groupements —SH* : la réaction est également négative.

4° *Zinc* : les métaux lourds n'apparaissent pas à cet âge.

5° *Activités enzymatiques* : les activités phosphatasiques, acides, alcalines, ribonucléasiques et estérasiques ne sont pas révélées, dans nos conditions d'expérience, à cet âge.

B. — EMBRYON DE 17 JOURS

Le deuxième stade étudié est le fœtus âgé de 17 jours, sa taille est de $2,7 \text{ cm} \pm 0,2$; le pancréas se distingue à cet âge macroscopiquement à la loupe binoculaire (Gt 10); il apparaît derrière l'estomac, encadré des viscères intestinaux, très étalé et finement granulaire; il est très fin et encore translucide; sa surface accidentée lui donne un aspect semblable à une peau de chagrin.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

La coloration topographique au Mann Dominici montre des sections de tubes, des cellules disposées autour d'une cavité et des cordons de cellules polygonales, en îlots.

Les cellules exocrines sont disposées autour des cavités sécrétantes de Laguesse, qui sont plus ou moins arrondies, rarement larges. Le cytoplasme des cellules est coloré à sa base en bleu, la région supranucléaire présente quelques granulations rouges, assez grosses : ce sont les premières granulations exocrines.

Les cellules insulaires sont disposées en cordons pleins, géométriquement accolées les unes aux autres; on distingue quelques capillaires dans certains îlots seulement. Le cytoplasme basophile est coloré en bleu au Mann Dominici. Les colorations à la fuchsine paraldéhyde et à l'Azan sont négatives, montrant l'absence de granulations spécifiques.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° *Cellules exocrines* (pl. VI, fig. 2).

La lumière des acini apparaît vide, et son bord épais est formé des membranes plasmiques des cellules qui l'entourent; le bord est dentelé par de petites végétations cytoplasmiques, encore virtuelles à ce stade.

1° *Le cytoplasme.* — Si on ne trouve pas encore de système membraneux généralisé, on remarque déjà, surtout à la base des cellules, quelques doubles lamelles ergastoplasmiques, parfois enroulées et organisées en Nebenkern (GARNIER, 1900; LAGUESSE, 1904). La région supranucléaire contient également quelques cisternæ ergastoplasmiques, arrondies ou aplaties, et surtout des petits grains contrastés, mêlés à de petites vésicules.

2° *L'appareil de Golgi.* — L'on distingue au-dessus du noyau quelques petites formations rectangulaires, représentées par un fond de substance à contraste faible; ce fond est recouvert de petites vésicules, de diamètre moyen de 250 Å et formées d'une membrane lisse, fine, de contraste moyen; elles sont habituellement groupées en chapelets suivant 2 ou 3 rangées; elles donnent ainsi des images semblables aux saccules et sont souvent disposées autour d'une grosse vésicule à diamètre moyen, 200 à 500 m μ , qu'elles coiffent. L'on peut déjà trouver à cet âge, au sein de ces formations, un saccule vrai, formé d'un sac aplati, à membrane lisse, fine et assez contrastée, d'un diamètre moyen de 50 Å. *Les rapports* de ces formations avec les grains de Palade sont intimes et ces derniers sont trouvés mêlés aux petites vésicules; de plus, les cisternæ ergastoplasmiques, entourées de grains de Palade, existent encore dans cette région; à leur niveau, se distinguent même des grosses vésicules coiffées des formations microvésiculaires et présentant, par endroit, des grains de Palade régulièrement disposés. Les grains de sécrétion et les mitochondries, qui se trouvent autour de ces formations et ont avec elles des rapports directs, les séparent des membranes plasmiques et de la lumière acineuse. Les noyaux présentent souvent à leur niveau une dépression.

3° *Les grains de sécrétion et les mitochondries.* Les grains de sécrétion apparaissent mêlés aux mitochondries dans la région supranucléaire; ils ont, comme ces derniers, une forme arrondie ou ovale; ils sont plus gros que ceux de l'adulte, de 500 à 800 m μ de diamètre; ils sont formés d'une substance homogène à contraste moyen et entourés d'une membrane propre, à contraste très légèrement supé-

rieur, et de 80 Å d'épaisseur moyenne; cette membrane apparaît nettement lorsque la substance centrale du grain est rétractée.

Le chondriome est formé, surtout dans la région supranucléaire, de mitochondries arrondies, mêlées aux grains de zymogène de même forme, de même taille, et présentant une membrane analogue; leur centre est irrégulièrement rempli d'une substance de contraste assez faible; on y rencontre souvent des crêtes transversales.

Grains et mitochondries ont des rapports directs avec les formations golgiennes, qu'ils entourent; l'on trouve, à côté d'eux, quelques grains de Palade et quelques cisternæ ergastoplasmiques.

4° *Le noyau.* — Le noyau est encore assez gros; le rapport N/P est plus grand que 0,5; il est assez irrégulier, sa membrane est assez épaisse, sa substance dense présente 1 ou 2 nucléoles structurés, souvent accolés à la membrane nucléaire.

2° *Cellules endocrines* (pl. VIII, fig. 2).

1° *Le cytoplasme.* — Il est formé à cet âge de grains de Palade; on y trouve également quelques doubles lamelles ergastoplasmiques très courtes, elles sont rares, et quelques cisternæ arrondies ou aplaties. De petites vésicules existent également, mêlées aux grains de Palade, autour du noyau principalement.

2° *L'appareil de Golgi.* — Dans le cytoplasme, autour du noyau, on aperçoit de petites formations rectangulaires de 100 à 200 m μ de long, en moyenne, formées d'un fond de substance, à contraste assez faible. Ce fond contient de petites vésicules, souvent ordonnées en une ou deux rangées et, parfois, de véritables saccules, assez petits et caractérisés par leur membrane fine et leur contraste dense. Des vésicules de 100 à 300 m μ de diamètre moyen, à parois assez épaisses et faiblement contrastées, se rencontrent également, souvent coiffées par ces formations. Ces dernières sont disséminées dans tout le cytoplasme, à côté du noyau, et mêlées aux grains de Palade. A leur pourtour se trouvent de petites agglomérations de mitochondries.

3° *Les grains de sécrétion et les mitochondries.* — Grains de sécrétion : de nombreux îlots n'en contiennent pas; dans d'autres, seules quelques cellules présentent, à côté du noyau, de très petites granulations de 80 m μ de diamètre moyen (bien plus petites que les granulations spécifiques). Elles sont formées d'une substance très contrastée, qui n'est pas toujours homogène. Ces petites granulations n'ont pas de membrane et sont disposées, sans polarité, parmi les mitochondries, à côté des formations golgiennes périnucléaires.

Le chondriome est formé de petits chondriocentes assez fluets, souvent coudés, présentant parfois une extrémité renflée, et de mito-

chondries arrondies; ces éléments sont entourés d'une membrane à contraste dense et de diamètre moyen de 60 Å. Leur centre est fait d'une substance irrégulièrement contrastée, où l'on reconnaît parfois quelques crêtes. Les mitochondries sont réparties dans la cellule, elles sont abondantes autour des formations golgiennes.

4° *Le noyau.* — Le noyau est assez gros et situé au centre de la cellule; sa membrane est assez épaisse et bien tracée; sa substance est dense et contient parfois quelques petits nucléoles.

III. — HISTOCHIMIE

1° *ARN* : le cytoplasme des cellules exocrines et endocrines est pyroninophile; il en est de même, à cet âge, des noyaux.

2° *Lipides « structurés »* : la réaction au noir soudan B est négative; le cytoplasme des cellules endocrines et exocrines n'est pas coloré.

3° *Groupements —SH* : la réaction de Chèvremont est légèrement positive au sein du cytoplasme exocrine; les grains exocrines apparaissent colorés en vert; la réaction est négative pour les cellules endocrines.

4° *Zinc* : la réaction de Voigt est négative.

5° *Activités enzymatiques* : dans nos conditions d'expérience, il n'y a pas d'activité enzymatique, phosphatasique, alcaline, ribonucléasique, estérasique; seuls les noyaux endocrines présentent une certaine activité phosphatasique acide, décelée par la méthode de Gomori.

C. — EMBRYON DE 19 JOURS

Le troisième stade étudié est le fœtus âgé de 19 jours, sa taille est de $3,2 \text{ cm} \pm 0,2$. L'examen à la loupe binoculaire précise l'aspect du pancréas; il est encore étalé, mais plus épais qu'au stade précédent et on le voit formé d'acini.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

La coloration générale de Mann Dominici montre, mêlés à quelques sections de canaux excréteurs, des cordons insulaires et des acini centrés par des cavités sécrétantes.

1° *Cellules exocrines.*

Les cellules exocrines forment les acini. Ce sont des cellules pyramidales, disposées radialement autour des cavités: ces dernières ont une lumière assez large: leur centre est clair. Les cellules acineuses ont un cytoplasme basophile, coloré en bleu par le Mann Dominici. La coloration trichrome montre au pôle apical des cellules, les grains de sécrétion Z assez nombreux et gros, colorés en rouge.

2° *Cellules endocrines.*

Une coloration générale au Mann Dominici montre les cellules insulaires disposées en cordons de cellules polygonales et séparées de capillaires plus nombreux qu'au stade précédent. Les cellules apparaissent avec cette coloration en gris-bleu.

La coloration spécifique à la fuchsine paralaldéhyde fait apparaître, dans les îlots, des cellules colorées en rose et précise ainsi l'existence de cellules B insulaires. La coloration à l'Azan est négative.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° *Cellules exocrines* (pl. VII, fig. 1).

La lumière des acini est claire et présente une paroi formée de végétations plus nombreuses et plus grandes qu'au stade précédent.

1° Le cytoplasme. — Le cytoplasme des cellules a une composante membraneuse assez importante: c'est l'ergastoplasme. Il est fait de doubles lamelles d'épaisseur moyenne de 80 Å et de contraste assez faible. Elles sont séparées par un intervalle clair de 80 à 100 Å en moyenne, lequel présente souvent des dilatations et des étranglements. Les bords des lamelles sont flanqués de grains de Palade. Ils sont caractérisés morphologiquement par leur diamètre moyen de 150 Å, leur contraste dense, et leur disposition à intervalles réguliers de 300 à 400 Å. Ces grains n'apparaissent que très rarement, isolés dans le cytoplasme. Les doubles lamelles forment des figures filamenteuses assez longues: parfois, elles sont enroulées, organisées en Neberkern. A cet âge, on assiste donc à la formation de l'ergastoplasme, en même temps que nous voyons disparaître les grains de Palade isolés.

2° *L'appareil de Golgi*. — Situé dans la région supra-nucléaire de la cellule, il apparaît typiquement, avec ses trois constituants; il est constitué généralement de un ou plusieurs dictyosomes, isolés ou groupés, de longueur variable de 200 m μ à 1 μ , et reposant sur un fond légèrement contrasté; chaque unité est faite :

1° De saccules; ils sont en petits paquets de 2 ou 3, rarement plus nombreux, aplatis et empilés; ils sont formés d'une membrane lisse, fine, à contraste dense; leurs extrémités sont parfois renflées, au voisinage desquelles se trouvent les petites vésicules.

2° De petites vésicules entourées, comme les saccules, d'une membrane fine et contrastée; elles ont un diamètre moyen de 200 à 300 Å et sont nombreuses.

3° De grosses vésicules, que coiffent souvent les paquets de saccules. Leur diamètre est variable. Leur paroi d'épaisseur moyenne de 80 Å est de contraste assez faible; ces vésicules sont parfois ouvertes, donnant des figures en C.

Nous remarquons qu'à cet âge la substance chromophile est prédominante dans la région golgienne.

L'appareil de Golgi est bordé par les grains de sécrétion et les mitochondries qui sont disposés autour de lui. Ces derniers le séparent des membranes plasmiques et de la lumière acineuse. L'ergastoplasme n'existe pas à son niveau, il est situé autour de l'appareil de Golgi, et le sépare du noyau.

3° *Les grains de sécrétion et les mitochondries* (pl. X). — Les grains de sécrétion sont situés autour de l'appareil de Golgi et mêlés aux mitochondries. A cet âge, ils sont plus nombreux que ces dernières. Leur taille est encore importante, de 200 à 800 m μ de diamètre moyen. Leur membrane, de diamètre moyen de 70 Å, est à contraste dense, et la substance amorphe, qui les forme, est homogène et contrastée.

Les mitochondries, assez rares, apparaissent parfois typiques, avec leurs crêtes transversales. Le plus souvent, cependant, des figures intermédiaires se rencontrent : ce sont des grains de sécrétion incomplets, présentant parfois un hile, au niveau duquel la membrane propre du grain présente une solution de continuité et à l'extérieur duquel on trouve parfois une ou plusieurs petites vésicules; ailleurs, ce sont des grains, dont la substance homogène n'est pas encore très contrastée et qui laisse apparaître un reste de crête mitochondriale. Ce sont également des grains, dont la substance contrastée n'est pas uniformément répartie, et là encore, des débris de crête se rencontrent. Ce sont des mitochondries pulvérisées, où l'on ne trouve, dans une substance assez faiblement contrastée, que des fragments de crête; d'autres mitochondries ont à un pôle une ou deux crêtes transversales, à l'autre pôle une substance homogène, à contraste dense. Enfin, ce sont un grain et une mitochondrie, enveloppés dans une même membrane, formant une figure en huit. Les rapports des grains de sécrétion et des mitochondries avec l'appareil de Golgi et, en particulier, avec ses petites

vésicules sont directs. Quelques petites vésicules ont même été retrouvées à l'intérieur du grain de sécrétion en formation ou à l'entrée du hile du grain. Dans tous les cas, la formation des grains de sécrétion se fait nécessairement au contact de l'appareil de Golgi, qui les précède et qui semble être un pôle attractif pour les mitochondries. L'ergastoplasme, plus abondant dans la partie basale, n'est pas directement lié aux grains à cet âge.

2° *Cellules endocrines* (pl. IX, fig. 1).

1° *Le cytoplasme.* — Il apparaît dense; il est encore formé de grains de diamètre moyen de 140 Å, à contraste dense, reposant sur un fond moins contrasté, isolés ou en amas. Ces grains sont mêlés à de petites vésicules de diamètre moyen, 200 à 300 Å, et entourées d'une membrane mince. Le cytoplasme des cellules endocrines présente également une composante membraneuse : ce sont des doubles lamelles, petites, ou encore des vésicules cisternæ, sur lesquelles s'accolent les grains de Palade plus ou moins régulièrement.

2° *L'appareil de Golgi.* — Il apparaît dans le cytoplasme, formé de petites unités, isolées ou groupées, réparties autour du noyau. Ces unités contiennent les trois composantes de l'appareil de Golgi :

1° Un paquet de saccules, deux ou trois, rarement davantage, à membrane contrastée et fine; ces saccules, de 200 à 500 m μ de long, reposent sur un fond de substance faiblement contrastée.

2° De petites vésicules se trouvent au voisinage des saccules, généralement à leurs extrémités. A cet âge, on trouve, mêlés aux petites vésicules, des grains à contraste dense et à diamètre moyen de 140 Å.

3° De grosses vésicules, coiffées assez souvent du paquet de saccules, apparaissent isolées ou groupées en petits paquets de deux ou trois.

Ces petites unités forment, dans le cytoplasme, des zones d'activité cellulaire, puisque c'est à leur voisinage direct que sont les mitochondries et les grains de sécrétion.

3° *Les grains de sécrétion et les mitochondries.* — Certaines cellules apparaissent sans grain de sécrétion et formées exclusivement de mitochondries; d'autres contiennent des grains, disséminés dans la cellule et toujours mêlés aux mitochondries, généralement situés au voisinage de l'appareil de Golgi, vers le pôle capillaire.

Ces grains, plus gros qu'au stade précédent, apparaissent arrondis, de diamètre moyen de 150 à 200 m μ . Ils sont faits d'une substance homogène et très contrastée. On distingue parfois une membrane propre, légèrement moins contrastée. Les grains, à ce stade, ne sont pas séparés de la membrane externe par un espace clair.

Le chondriome, mêlé aux grains, est fait, d'une part, de chondriocotes effilés et coudés, parfois terminés en massue, et, d'autre part, de mitochondries arrondies de diamètre moyen très légèrement supérieur à celui des grains de sécrétion.

On trouve également des formes intermédiaires, où les chondriocotes présentent par exemple des renflements granuliformes, ou encore des mitochondries remplies partiellement et irrégulièrement d'une substance très contrastée.

4° *Le noyau*. — Il est gros, le rapport N/P est plus grand que 0,5. La membrane nucléaire est épaisse et le centre assez dense. On trouve parfois de petits nucléoles.

Remarque. — Nous terminerons cette description en précisant que les cellules rencontrées à ce stade n'ont pas un même degré de différenciation; ainsi, des cellules décrites au stade précédent se trouvent encore chez l'embryon de 19 jours. Il en sera de même pour les autres âges, si bien que certaines cellules décrites à ce stade apparaîtront chez des embryons plus âgés, et même chez de jeunes Rats après la naissance.

III. — ÉTUDE HISTOCHIMIQUE

1° *ARN* : l'ARN est présent dans le cytoplasme des cellules exocrines et endocrines.

2° *Lipides « structurés »* : la coloration au noir soudan B, après oxydation, colore certaines cellules insulaires.

3° *Protéines —SH* : la réaction de Chèvremont montre l'existence de groupements —SH dans le cytoplasme de certaines cellules insulaires; de plus, le cytoplasme des cellules exocrines et surtout les grains Z se colorent en bleu de Turnbull par cette réaction.

4° *Zinc* : la réaction au sulfure d'argent de Voigt est positive au niveau de la plupart des cellules insulaires; ces dernières présentent de nombreuses granulations noires cytoplasmiques.

IV. — ÉTUDE ENZYMATIQUE

L'étude des activités enzymatiques montre l'existence d'une activité phosphatasique acide moyenne, décelée, dans nos conditions d'expérience, au niveau des noyaux et dans certains cytoplasmes insulaires.

D. — EMBRYON DE 21 JOURS

Le quatrième stade étudié est le fœtus âgé de 21 jours; sa taille est de $4,5 \text{ cm} \pm 0,2$. L'examen macroscopique du pancréas, à l'œil nu, le montre de couleur blanche, assez épais et formé de grains acineux assez serrés.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

La coloration générale au Mann Dominici montre les acini assez gros, en voie de lobation et de division. Ils présentent de larges lumières formant des figures géométriques variées. La paroi présente des végétations encore filiformes et les membranes plasmiques qui la constituent sont encore épaisses et bien tracées.

1° Le cytoplasme des cellules exocrines apparaît en bleu, assez basophile, surtout à sa partie basale; le pôle apical des cellules est rempli de grains Z, serrés les uns à côté des autres et débordant la région sur les côtés. La coloration trichrome les fait bien apparaître en rouge.

Il est fréquent, à cet âge, de rencontrer dans les acini une cellule isolée ou un paquet de cellules claires, sans grain, à gros noyau; ces cellules centro-acineuses sont mêlées aux cellules sécrétrices ou comblent partiellement la lumière des acini.

2° Cellules endocrines : une coloration générale, le trichrome par exemple, montre les îlots formés de cordons cellulaires disposés le long des sinus capillaires; le cytoplasme des cellules apparaît en gris.

La coloration spécifique à la fuchsine paraldéhyde, qui met en évidence à ce stade les îlots (coloration rose faible), montre que ceux-ci sont composés de cellules B; cependant, dans certains îlots, à leur périphérie, quelques cellules, petites, angulaires ou fusiformes, restent claires. La coloration à l'Azan est négative, même au niveau de ces cellules; ces dernières sont considérées, à cause de leur topographie périphérique, comme génératrices de cellules A (HARD, 1944; et FRYE, 1957).

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines (pl. VII, fig. 2).

1° *Le cytoplasme.* Il est fait d'ergastoplasme, surtout à la base de la cellule, lequel est formé de doubles lamelles de contraste assez faible et d'épaisseur moyenne de $80 \text{ \AA}$, séparées d'intervalles de $80 \text{ \AA}$ en moyenne, présentant cependant par endroit des dilatations ampul-

lares de 200 à 300 Å; ces doubles lamelles sont assez voisines et empilées en feuillets, séparées d'espaces de 200 à 300 Å en moyenne. Il est à noter que les lamelles sont assez fragmentées et apparaissent plutôt comme des sacs aplatis. Les grains de Palade sont disposés régulièrement sur leurs bords externes, séparés par des intervalles de 200 à 300 Å.

L'ergastoplasme se présente dans la portion apicale sous forme de vésicules assez petites, de diamètre variable de 50 à 500 m μ ; cet ergastoplasme n'a pas encore l'aspect adulte, il est cependant diffus dans la cellule et net dans la partie basale ainsi que dans la portion apicale entre le noyau et l'appareil de Golgi; ses rapports avec les grains de sécrétion ne sont pas directs, malgré la présence de quelques petites cisternæ dans la région des grains.

2° *L'appareil de Golgi.* -- Il est situé dans la région supranucléaire. A ce stade, de grosses vésicules le composent, essentiellement. Elles sont, certes, parfois coiffées d'un ou deux petits saccules empilés et aplatis qui présentent à leurs extrémités quelques microvésicules, surtout à la périphérie de la zone golgienne. Les grosses vésicules occupent le centre de cette région; elles sont faites de plusieurs unités arrondies et parfois groupées en paquets de 2 ou 3. Leur diamètre est variable, allant de 200 m μ à 1 ou 2 μ . Leur membrane présente un contraste assez faible ou faible, et son épaisseur, souvent mal définie, est de 80 Å en moyenne; ces membranes présentent des solutions de continuité plus ou moins importantes, et l'on trouve, à ce stade, des images en C ou même des vésicules sans paroi propre.

Cet appareil de Golgi est en rapport avec l'ergastoplasme qui se trouve à sa périphérie, le contournant et le séparant du noyau. Ce dernier présente une petite dépression à son niveau. Les grains de sécrétion, qui ne sont pas tous à son contact, mais qui déjà sont groupés en paquets dans la partie apicale de la cellule, l'isolent de la lumière sécrétrice.

3° *Les grains de sécrétion et mitochondries.* — Les grains de sécrétion sont situés dans la région supranucléaire et également latéralement à côté du noyau; ils sont très nombreux, groupés les uns à côté des autres, de taille variable, de forme arrondie ou ovale; leur diamètre moyen est de 500 m μ .

Ils sont formés d'une substance homogène et moyennement contrastée qu'entoure une membrane propre.

Quelques rares mitochondries sont mêlées à eux, de même taille, de même forme et présentant la même membrane; ces mitochondries sont traversées parfois de crêtes assez petites à cet âge.

Grains de sécrétion et mitochondries ont des rapports avec l'ergastoplasme qui existe à leur voisinage, sans toutefois les entourer; dans certaines sections, on voit une double lamelle entourer une partie d'un grain Z.

4° *Le noyau.* — Il est arrondi, régulier et petit. Le rapport N/P est plus petit que 0,5, comme chez l'adulte; la membrane nucléaire est assez fine, le nucléole toujours structuré et déjà séparé de cette membrane.

2° *Cellules endocrines* (pl. IX, fig. 2).

1° *Le cytoplasme.* — Il apparaît dense, formé d'une substance réticulée assez empâtée; on y trouve quelques lacets courts de lamelles ergastoplasmiques, sur lesquelles sont disposés plus ou moins régulièrement des grains de Palade; plus souvent, le réticulum se présente sur un fond de substance amorphe, plus ou moins contrastée, et dans lequel se trouvent des fragments de membrane.

2° *L'appareil de Golgi.* — Large et complexe autour du noyau, il est formé de plusieurs unités assez petites, avec une prédominance dans ces cellules de la composante vacuolaire. Les petits paquets de saccules, quand on les rencontre, apparaissent formés d'un petit nombre d'éléments et coiffent les grosses vésicules; celles-ci, nombreuses, de diamètre variable de 100 à 500 m μ , ont un centre clair et sont formées d'une membrane à contraste faible et mal définie; elles sont fréquemment accolées en petits paquets le long du noyau; les petites vésicules se trouvent au voisinage de ces formations et mêlées encore à des grains de contraste dense et de diamètre moyen de 140 Å.

Les appareils de Golgi sont entourés de petites mitochondries et de grains de sécrétion; les filaments ergastoplasmiques n'envahissent pas sa région; le noyau est à côté de l'appareil de Golgi; ce dernier est diffus dans sa situation paranucléaire.

3° *Les grains de sécrétion et les mitochondries.* Les grains de sécrétion sont maintenant très nombreux et remplissent la plupart des cellules, leur donnant une forme arrondie. Ces grains sont orientés principalement vers les capillaires et donnent des images d'inclusions filamenteuses; ils sont plus gros qu'au stade précédent et arrondis, leur diamètre moyen est de 150 à 200 m μ , celui de l'adulte; ils sont remplis d'une substance homogène et très contrastée, et possèdent une membrane propre. A ce stade, ils sont parfois isolés, mais on les rencontre souvent enfermés dans une alvéole, comme chez l'adulte.

Le chondriome est mêlé à ces grains. Assez rare à cet âge, il est fait de chondriocontes effilés et de quelques mitochondries à centre clair; il existe, avec le grain de sécrétion, des figures intermédiaires, appréciables surtout par le degré de contraste et l'absence d'homogénéité de la substance, qui remplit la granulation.

Si les grains sont agglomérés dans la direction des capillaires, ils se trouvent également à la périphérie de l'appareil de Golgi.

4° *Le noyau*. — Il est assez gros, souvent central, le rapport N/P est plus grand que 0,5, comme chez l'adulte; sa membrane est assez fine, on y trouve rarement un nucléole.

CELLULES ENDOCRINES CLAIRES

Nous mentionnerons leur existence à cet âge; elles sont peu nombreuses et à la périphérie des îlots; leur noyau est assez gros et irrégulier, polylobé parfois; elles présentent un cytoplasme clair où l'on trouve quelques mitochondries arrondies à membrane épaisse et à centre clair. Il n'y a pas de système membraneux dans le cytoplasme et il n'y a pas de grain de sécrétion.

III. — HISTOCHIMIE

1° *ARN* : la réaction au vert de méthyle-pyronine montre le cytoplasme des cellules exocrines rouge; le cytoplasme des cellules endocrines apparaît pâle et presque gris, comme chez l'adulte; les noyaux commencent à apparaître, verts.

2° *Lipides « structurés »* : la réaction au noir soudan B est positive dans le cytoplasme de la plupart des cellules endocrines.

3° *La réaction des groupements SH* est positive au niveau du cytoplasme des cellules endocrines; cette réaction est également très positive au niveau des grains de sécrétion Z et du cytoplasme exocrine.

4° *Zinc* : la réaction de Voigt est positive au niveau des cellules insulaires.

IV. — ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

L'étude des activités enzymatiques montre une activité phosphatase acide très intense dans les cellules endocrines (cytoplasme et noyau).

L'activité phosphatase alcaline est, dans nos conditions d'expérience, nulle, sauf en bordure de quelques îlots où apparaît une faible activité.

L'activité ribonucléasique est positive dans les îlots.

E. — RAT NOUVEAU-NÉ.
24 HEURES APRÈS LA NAISSANCE

Le pancréas de jeune Rat âgé de 24 heures apparaît macroscopiquement de couleur blanche; il est épais et présente de petites granulations.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

Une coloration trichrome montre la présence d'acini. Centrées sur des lumières encore assez larges, les cellules acineuses ont un cytoplasme rose et présentent des granulations rouges beaucoup moins nombreuses qu'au stade précédent.

La coloration trichrome présente les îlots en gris; ceux-ci, assez nombreux au milieu des acini, sont formés de cellules arrondies et disposées en cordons. La coloration à la fuchsine paraldéhyde montre spécifiquement la présence de cellules B dans la plupart des îlots; cependant, cette coloration n'est pas aussi nette, violet pourpre, que chez l'adulte. Quelques cellules claires en bordure ne se colorent pas; la coloration à l'Azan est négative, et ce résultat a permis à HARD (1944) de considérer les cellules insulaires périphériques claires, comme des cellules A « immatures ».

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines.

Les lumières acineuses sont remplies irrégulièrement d'une substance à contraste moyen; leurs membranes plasmiques présentent des digitations filiformes.

1° *Le cytoplasme.* — L'ergastoplasme, plus abondant, s'étend vers la région apicale de la cellule, sans avoir encore de rapport direct avec les grains.

2° *L'appareil de Golgi.* — Il apparaît typiquement comme chez l'adulte, au niveau de la région supranucléaire. Paucisacculaire, il est fait de quelques petits paquets de 2 à 3 saccules aplatis et empilés, qui présentent à leurs extrémités quelques microvésicules et qui coiffent souvent les grosses vacuoles, prédominantes dans la région golgienne.

3° *Les grains de sécrétion.* — Les grains Z apparaissent plus petits, 300 à 500 m μ de diamètre moyen, et moins nombreux; ils sont localisés au pôle apical.

4° *Le noyau.* — Il est à la base de la cellule, petit, régulier et arrondi; son nucléole est central.

2° Cellules endocrines.

1° *Le cytoplasme.* — Il présente encore quelques doubles lamelles ergastoplasmiques, surtout à côté du noyau et à la périphérie des cellules. Plus généralement, le cytoplasme apparaît dense et formé d'une substance amorphe, à contraste assez faible, et de membranes. Ces dernières sont nettes autour des grains de sécrétion.

2° *L'appareil de Golgi.* — Assez diffus, périnucléaire, il est souvent situé dans la direction des capillaires; ce sont de petites unités formées de 2 à 3 petits saccules, avec des petites vésicules à leurs extrémités et disposées autour de grosses vésicules de 200 à 300 m μ de diamètre moyen, groupées par 2 ou 3; ces vésicules sont moins grandes que celles de la cellule exocrine, et prédominent à ce stade dans les cellules contenant beaucoup de grains.

3° *Les grains de sécrétion.* — Leur nombre est variable suivant les cellules, parfois important, le plus souvent réduit comme chez l'adulte. Ils sont orientés vers le pôle capillaire de la cellule. Plus rarement, dans certaines cellules, on trouve quelques grains de sécrétion accompagnés de nombreuses mitochondries: ce sont les cellules qui viennent de se différencier; ces grains sont généralement arrondis, de 150 à 200 m μ de diamètre moyen, et formés d'une substance homogène à contraste dense. Ils ont, semble-t-il, une membrane propre, ainsi, chez certains d'entre eux, qu'une membrane externe, fine et contrastée, qui est séparée du grain par un petit intervalle, comme chez l'adulte.

Ces grains se rencontrent généralement autour de l'appareil de Golgi et vers le pôle capillaire de la cellule.

3° Cellules endocrines A.

1° *ARN*: le cytoplasme des cellules exocrines est pyroninophile; celui des cellules endocrines est gris; les noyaux sont bleus.

2° *Lipides « structurés »*: la réaction au noir soudan B après oxydation est positive au niveau du cytoplasme des cellules insulaires; la périphérie des îlots présente une bordure de cellules claires.

3° *Groupements —SH* : comme pour les lipides, la réaction est positive au niveau du cytoplasme des cellules B. Les cellules exocrines présentent un cytoplasme à réaction positive, de même que les granulations.

4° *Activités enzymatiques.*

L'activité phosphatasique acide est très accélérée au niveau des cellules B; l'activité phosphatasique alcaline apparaît en bordure de nombreux îlots; l'activité ribonucléasique est marquée au niveau de l'îlot et en bordure apicale des cellules exocrines.

F. — JEUNE RAT DE 7 JOURS

Le pancréas des jeunes Rats de 7 jours apparaît moins nacré et présente un aspect moins granulaire qu'au stade précédent.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

Une coloration trichrome montre le cytoplasme des cellules acineuses rose, comme chez l'adulte, et les grains Z rouges. Ils sont situés dans la région apicale de la cellule exclusivement.

Les îlots apparaissent colorés en gris.

La coloration spécifique à la fuchsine paraldéhyde montre les granulations B des cellules intensément fuchsinophiles, comme chez l'adulte. Le nombre des granulations a cependant diminué par rapport au 2° jour.

La coloration à l'Azan donne une teinte rose assez pâle aux cellules périphériques des îlots, que l'on peut identifier en cellules A.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° *Cellules exocrines.*

1° *L'ergastoplasme* est assez dense et les doubles lamelles serrées en feuillets.

Les rapports avec les grains Z sont le plus souvent les mêmes que chez l'adulte.

2° *L'appareil de Golgi* a sa forme adulte.

3° *Les grains de sécrétion.* — Au pôle apical, ils sont entourés de sacs ergastoplasmiques et sont en rapport direct avec les végétations qui entourent les lumières sécrétrices.

4° *Le noyau.* — Comme chez l'adulte, il est assez petit, le rapport N/P plus petit que 0,5.

Il faut signaler qu'à cet âge l'on rencontre assez souvent des cellules contenant des grains Z à côté de grains endocrines. Ces cellules ont perdu leur polarité, leur noyau est central, l'ergastoplasme vésiculaire ou réticulé, et l'on trouve dans ces cellules au sein de l'ergastoplasme des corpuscules formés de substance dense, à contour irrégulier. Ces corpuscules correspondent aux gouttelettes lipidiques, que Weiss (1955) a décrites au niveau du duodénum.

2° *Cellules endocrines.*

1° *Cellules endocrines B.* — Elles apparaissent semblables à celles de l'adulte : leur cytoplasme est dense, formé essentiellement d'une substance amorphe peu contrastée, avec des débris de membrane, plus nets à la périphérie des grains. L'intervalle qui sépare cette membrane externe des grains de sécrétion est assez étroit.

L'appareil de Golgi périnucléaire et assez étalé correspond à celui de l'adulte. Le noyau est rond et régulier.

2° *Cellules endocrines A.* — Elles ont un cytoplasme clair; on y trouve quelques mitochondries et parfois déjà quelques granulations. Ces dernières ne sont pas nombreuses et sont situées près du noyau.

III. — HISTOCHIMIE

ARN, lipoprotéines et groupements —SH donnent à ce stade des réactions analogues à celles de l'adulte.

IV. — ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

— L'activité phosphatasique acide est accélérée au niveau des cellules B.

— L'activité phosphatasique alcaline est également accélérée en bordure de l'îlot, au niveau des cellules A.

— L'activité ribonucléasique est manifeste au niveau des cellules insulaires, dans nos conditions d'expérience.

CHAPITRE V

ÉTUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES PANCRÉATIQUES DANS CERTAINS ÉTATS PHYSIOLOGIQUES ET EXPÉRIMENTAUX

A. — RAT AFFAMÉ

Le pancréas de Rat soumis à une diète hydrique (biberon d'eau) 48 heures avant le sacrifice apparaît blanc laiteux et assez épais.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

La coloration trichrome montre une grande abondance de granulations Z colorées en rouge au pôle apical, et débordant latéralement à côté du noyau des cellules exocrines. La réaction à la fuchsine paraldéhyde révèle les granulations B moins nombreuses que chez l'animal normal. La réaction à l'Azan précise également une diminution de granulations A.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° *Cellules exocrines* (pl. XV, fig. 1 et 2).

La lumière des acini apparaît souvent vide et bordée d'une épaisse membrane présentant de petites digitations.

1° *Cytoplasme.* — L'ergastoplasme est fait de doubles lamelles séparées par des intervalles clairs souvent dilatés et ampullaires. L'espace qui sépare les doubles lamelles entre elles est également plus élargi que normalement. Les grains de Palade flanqués régulièrement sur le bord externe des lamelles sont plus espacés les uns des autres que normalement.

2° *L'appareil de Golgi.* — Il est, dans la région supranucléaire prédominé par la composante vacuolaire : plusieurs vésicules à membrane lisse, souvent groupées en paquet, le composent. Quelquefois, un ou deux saccules aplatis, à contraste moyen, les coiffent; les petites vésicules sont également peu nombreuses.

3° *Les grains de sécrétion.* — Ils sont très nombreux, au pôle apical, de taille et de forme normales, ils débordent latéralement à côté du noyau.

4° *Les mitochondries.* — Elles sont assez épaisses et traversées de longues crêtes transversales. Nous décrirons, dans ce paragraphe, l'existence de corpuscules mêlés à l'ergastoplasme, à côté des mitochondries. Ils sont irrégulièrement arrondis ou ovalaires de 0,5 à 1 μ ; ils ont un centre clair et un pourtour contrasté, plus ou moins épais; il semble que ce soit les images de dégénérescence organitique (mitochondries ou grains de sécrétion).

5° *Le noyau.* — Il est arrondi et assez gros, et souvent le rapport N/P est plus grand que 0,5. La membrane nucléaire est bien tracée, la substance du noyau est peu contrastée et les nucléoles sont rares.

2° Cellules endocrines B.

Elles sont caractérisées par la prédominance de la composante vacuolaire dans l'appareil de Golgi et la petite quantité de granulations. Les mitochondries sont au contraire nombreuses et épaisses. Le noyau est gros.

3° Cellules endocrines A.

Elles ne diffèrent du sujet normal que par la petite quantité des granulations.

III. — HISTOCHIMIE ET ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

ARN : les cellules exocrines ont un cytoplasme pyroninophile à la base, les cellules endocrines sont grises.

Lipides et groupements sulfhydrylés : les réactions spécifiques de ces corps montrent leur diminution au niveau du cytoplasme des cellules B.

Zinc : les réactions de Voigt et de Maske colorent quelques granulations A, moins nombreuses que normalement.

Activité phosphatasique : les activités phosphatasiques acides au niveau des cellules B et alcalines au niveau des cellules A sont diminuées.

IV. — FORMES PARTICULIÈRES

L'animal à jeun 48 heures et nourri une heure, avant le sacrifice, présente des lumières acineuses souvent remplies d'une substance moyennement contrastée. Les grains Z apparaissent parfois vides. L'appareil de Golgi est formé de saccules aplatis et contrastés, et également de petites vésicules assez nombreuses.

L'embryon de 21 jours, dont la mère est à jeun depuis 48 heures, présente de nombreux grains Z dans les cellules exocrines et une absence de granulations spécifiques dans les cellules insulaires.

B. — RATE GESTANTE

Nous décrirons les cellules sécrétrices des pancréas de Rate gestante âgée de 18 jours. Cette description s'applique également, pour nos critères d'étude, aux pancréas de Rate gestante âgée de 15 à 21 jours.

A l'autopsie, le pancréas apparaît gris rose, épais et congestif.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

La coloration de Mann Dominici montre les cellules acineuses colorées en bleu à la partie basale; les îlots, assez nombreux, sont en négatif gris et parfois formés de 5 à 6 cellules au sein du parenchyme exocrine.

La coloration trichrome montre les grains Z en rouge au pôle apical des cellules acineuses. Ils y sont peu nombreux.

La coloration à la fuchsine paralaldéhyde révèle des nombreuses granulations B dans les cellules centrales insulaires et également au niveau des petits paquets de cellules mêlés aux acini.

La coloration à l'Azan montre l'existence de granulations A au niveau des cellules périphériques insulaires.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines.

Le cytoplasme est fait d'ergastoplasme plus abondant que normalement. Les lamelles ergastoplasmiques sont séparées entre elles par un intervalle plus mince que chez l'animal normal. L'espace contrasté cytoplasmique séparant les feuilletts ergastoplasmiques est assez élargi et contient d'assez nombreux grains de Palade. Nous décrirons, dans ce paragraphe, des corpuscules mêlés à l'ergastoplasme et situés à la base de la cellule. Ils sont isolés ou groupés en chapelet de trois ou quatre. Ces corps étrangers sont généralement arrondis, leur diamètre moyen variant de 0,5 à 2 μ . Leur bord à contour irrégulier est entouré d'une membrane fine. Ces corpuscules sont formés d'une substance irrégulièrement contrastée, parfois cependant, cette substance est noire et homogène. Ils apparaissent généralement « vibrés » sur les coupes, leur substance étant plus dense que le reste de la cellule (pl. XVI, fig. 1).

Les grains Z situés dans la région supranucléaire sont moins nombreux et plus contrastés que normalement.

Le noyau arrondi est petit et entouré d'une membrane épaisse, il contient souvent un gros nucléole structuré.

2° Cellules endocrines B.

Le cytoplasme est dense, les mitochondries sont nombreuses, les grains de sécrétion sont abondants et très contrastés, le noyau régulièrement arrondi est gros.

3° Cellules endocrines A.

Les cellules claires ont été rarement observées. Leur apparence est normale.

III. — HISTOCHIMIE ET ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

ARN : les cellules endocrines présentent une très légère pyronophilie avec la coloration au vert de méthyle pyronine.

Lipides et groupements sulphydrylés : les réactions histochimiques de ces corps ne montrent pas de différence significative avec le Rat normal.

Métal lourd : les réactions de Voigt au sulfure d'argent ou de Maske à la dithizone montrent une diminution du zinc au niveau des cellules A insulaires.

Activité phosphatasique : l'activité phosphatasique acide est accélérée.

C. — RAT ALLOXANISÉ

Nous décrirons les cellules pancréatiques de Rat ayant reçu 300 mg d'alloxane par injection intrapéritonéale et sacrifié 24 heures après l'injection.

A l'autopsie, le pancréas de Rat apparaît blanc laiteux et rétréci.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

Une coloration générale au trichrome montre des acini centrés sur une lumière. Mêlés à eux, se trouvent des cordons insulaires.

Le cytoplasme des cellules acineuses apparaît rose, et les granulations Z apicales sont abondantes, colorées en rouge.

Les cellules endocrines apparaissent grises au centre de l'îlot où l'on trouve également des lacunes. A la périphérie, les cellules insulaires présentent des granulations faiblement colorées en rose.

La coloration à la fuchsine paraldéhyde montre l'absence de granulations B, la coloration à l'Azan montre l'abondance relative des granulations A, colorées en rouge.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines.

La lumière des acini est le plus souvent vide et bordée d'une membrane peu accidentée. Les digitations sont le plus souvent filiformes.

1° *Cytoplasme*. — L'ergastoplasme a une forme particulière; il est fait de doubles lamelles de 80 Å de diamètre moyen, de faible contraste, séparées par de larges intervalles et présentant de nombreuses dilatations ampullaires. Ces lamelles sont bordées extérieurement de grains de Palade, plus ou moins régulièrement disposés,

le plus souvent ils sont rapprochés les uns des autres dans l'espace cytoplasmique contrasté, formé par l'ergastoplasme.

Les doubles lamelles sont serrées les unes contre les autres et abondantes.

2° *L'appareil de Golgi*. — Nous n'avons pas rencontré d'appareil de Golgi caractéristique ; cependant, au siège de la région supra-nucléaire, il existe souvent une ou deux grosses vacuoles de diamètre moyen de 0,5 à 0,8 μ , entourées d'une membrane lisse à contraste faible.

3° *Les grains de sécrétion*. — Ils sont nombreux, habituellement normaux, arrondis, de 0,3 à 0,5 μ de diamètre moyen et formés d'une substance homogène à contraste relativement dense. Ils apparaissent cependant gonflés dans quelques cellules, leur centre clair contient quelques petits granules et leur pourtour est plus dense : c'est l'image de dégénérescence hydropique des grains Z.

Ces grains ont des rapports directs avec la membrane plasmique. L'ergastoplasme, à son voisinage, apparaît formé de petites vésicules rugueuses, assez nombreuses et parfois légèrement aplaties.

Le chondriome : assez rare, il se présente sous forme de chondriomeres épais et gros, avec des crêtes transversales nombreuses et longues. On trouve parfois également des figures de dégénérescence, avec gonflement de la mitochondrie et vacuolisation.

4° *Le noyau* est entouré d'une membrane épaisse; son centre est dense et le nucléole central structuré est très contrasté.

2° Cellules endocrines B.

1° *Le cytoplasme* (pl. XI, fig. 1). — Il apparaît vésiculaire; il est formé de petites vésicules de 50 à 100 μ de diamètre moyen, à centre clair, et entourées d'une membrane assez faiblement contrastée et rugueuse; sur son bord externe, se trouvent plus ou moins régulièrement disposés de petits grains très contrastés, de diamètre variable, souvent de l'ordre de 140 Å, parfois plus gros. Ces vésicules assez serrées donnent au cytoplasme un aspect dense.

Dans certaines cellules, on trouve des images de dégénérescence vacuolaire au sein du cytoplasme.

2° *L'appareil de Golgi* (pl. XI, fig. 2). — On ne trouve pas d'appareil de Golgi caractéristique dans les cellules B. Les saccules et les petites vésicules golgiennes, n'ont pas été rencontrés. On trouve cependant dans le cytoplasme quelques éléments vacuolaires de 100 à 400 μ de diamètre, à centre clair, et entourés d'une membrane lisse. Ces éléments sont parfois groupés en paquets. L'absence d'appareil de Golgi est en accord avec le résultat obtenu en microscopie optique par BATTIS (1959).

3° *Les grains de sécrétion.* — Il n'existe pas de grains de sécrétion dans les cellules B.

Le chondriome : il est formé de petits chondriocentes flexueux et de mitochondries souvent situées à côté des formations vacuolaires. Ces éléments sont assez nombreux.

4° *Le noyau.* — Arrondi et régulier, il présente une membrane épaisse et bien contrastée. Il est formé d'une substance assez dense; on y trouve assez souvent un nucléole.

3° *Cellules endocrines A* (pl. XII, fig. 2 et 3).

Elles sont normales et relativement plus nombreuses.

1° *Le cytoplasme.* — Il est clair, on y trouve de petits ponts de substance amorphe à contraste assez faible, sur lesquels reposent grains de sécrétion et mitochondries.

2° *L'appareil de Golgi.* — Il est simple et formé de petites vacuoles groupées en paquet à côté du noyau.

3° *Les grains de sécrétion.* — Ils sont assez nombreux, normaux, arrondis, de diamètre moyen de 150 m μ et formés d'une substance homogène très contrastée.

4° *Le noyau.* — Il est assez gros, parfois irrégulièrement arrondi, sa membrane est assez épaisse.

III. — HISTOCHIMIE

1° *ARN* : la réaction au vert de méthyle-pyronine donne les résultats suivants :

a) cellules exocrines : pyroninophilie au niveau du cytoplasme; les noyaux sont colorés en bleu;

b) cellules B : faible coloration rose du cytoplasme des cellules B et, plus rarement, pyroninophilie franche de certaines cellules;

c) cellules A : absence de pyroninophilie cytoplasmique.

2° *Lipoprotéine* : la réaction au noir soudan B ne nous a pas montré une intensité de réaction diminuée au niveau des cellules B.

3° *Groupements -SH* : il semble qu'il y ait une diminution de la coloration de Chèvremont au sein du cytoplasme des cellules B.

La coloration des cellules exocrines n'apparaît pas modifiée.

4° *Zinc* : la réaction de Voigt par formation de sulfure d'argent montre un grand nombre de cellules insulaires qui présentent des granulations noires assez nombreuses. La réaction à la dithizone donne des résultats superposables.

5° *Activités enzymatiques* : phosphatases acides : l'activité des P2 est accrue au niveau des cellules B; l'activité se manifeste également, dans nos conditions d'expérience, au niveau des noyaux des cellules exocrines;

— phosphatases alcalines : il y a une activité accrue au niveau des cellules A.

FORME PARTICULIÈRE : RAT SACRIFIÉ 6 HEURES APRÈS ADMINISTRATION D'ALLOXANE

Cellules exocrines : l'ergastoplasme, assez dense, prend dans certaines cellules une forme vésiculaire et contient souvent de nombreux grains de Palade.

Cellules endocrines B : le cytoplasme est dense, l'on y trouve encore des granulations B. Celles-ci sont contenues dans des alvéoles très dilatées, et l'intervalle clair, qui sépare la membrane externe du grain, est important également. Des alvéoles apparaissent vides. L'appareil de Golgi est déjà d'aspect vacuolaire (pl. XII, fig. 1).

Cellules endocrines A : elles sont normales et contiennent de nombreuses granulations contrastées.

D. — RAT SULFAMIDÉ

Nous décrivons les cellules sécrétrices du pancréas de Rat normal, ayant reçu 50 mg par jour, pendant 5 jours, de sulfamides hypoglycémiants (2259 R. P.).

Le pancréas à l'autopsie apparaît rose, bien coloré et congestif.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

L'étude du pancréas après coloration au Mann Dominici montre le cytoplasme des cellules acineuses coloré en bleu, dans sa partie basale. Les cellules insulaires apparaissent en gris-bleu.

La coloration trichrome montre les granulations Z des cellules

acineuses rouges, nombreuses dans la région supranucléaire. Cette coloration révèle également en rose quelques granulations au niveau des cellules périphériques insulaires.

La coloration à la fuchsine paraldéhyde montre que les granulations spécifiques sont peu nombreuses dans les cellules centrales de l'îlot.

La coloration à l'Azan confirme le résultat obtenu avec le trichrome et fait apparaître en rouge les granulations A des cellules A insulaires, légèrement moins nombreuses que normalement.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines.

Ces dernières sont disposées autour des lumières acineuses, qui apparaissent le plus souvent vides et formées d'un rebord assez épais.

1° Le cytoplasme. — Il est fait d'ergastoplasme ; les doubles lamelles sont le plus souvent séparées par des intervalles larges et présentent des dilatations ampullaires. L'espace faiblement contrasté qui existe entre les doubles lamelles est d'épaisseur normale. Les grains de Palade sont disposés sur les bords externes des lamelles. Ils sont plus rapprochés que normalement. L'ergastoplasme apparaît, dans la région supranucléaire, sous une forme vésiculaire ; on y rencontre de fréquentes cisternæ.

2° L'appareil de Golgi. — Il est situé dans la région supranucléaire.

Très abondant, il est constitué de saccules aplatis et empilés, 2 à 3 en moyenne ; au voisinage de leurs extrémités, on trouve de petites vésicules. Les saccules coiffent souvent des grosses vésicules qui sont groupées en paquets de 2 ou 3 et occupent largement la région golgienne.

3° Grains de sécrétion. — Les grains de sécrétion Z, situés à la périphérie de l'appareil de Golgi, sont très nombreux, de taille normale, arrondis, leur diamètre moyen est de 0,5 μ ; ils sont formés d'une substance moyennement contrastée ; ils ont des rapports avec l'appareil de Golgi et ses petites vésicules. L'ergastoplasme est vésiculaire au voisinage des grains de sécrétion.

Le chondriome est formé de mitochondries peu nombreuses et mêlées, dans la région supranucléaire, aux grains de sécrétion.

4° Le noyau. — Il est arrondi et régulier ; le rapport N/P est plus petit que 0,5. Il présente souvent un nucléole structuré.

2° Cellules endocrines B.

1° **Le cytoplasme** (pl. XIII, fig. 1 et 2). — Il apparaît dense et formé d'un système membraneux qui, dans nos conditions d'expérience, est assez diffus et varié. L'on y trouve en effet :

1° Au bord, des cellules, et près du noyau de véritables fragments de doubles lamelles ergastoplasmiques. Ces fragments, constitués de membranes rugueuses à contraste assez faible et d'épaisseur moyenne de 80 Å, sont flanqués sur leur bord externe de grains de Palade; ces derniers sont cependant assez distants les uns des autres et souvent irrégulièrement disposés. Ces fragments sont assez longs, pouvant atteindre 2 ou 3 μ et sont parfois groupés en paquets de 2 ou 3, en strates. Leur abondance dans les cellules B est supérieure à la normale et leur présence est constante dans les cellules.

2° Ailleurs, le cytoplasme apparaît formé d'une substance amorphe à contraste faible ou assez faible et responsable de sa densité; dans ce fond contrasté, on trouve des fragments de membrane lisse, d'épaisseur et de contraste variables, souvent groupés par 2 ou plusieurs; ces membranes deviennent nettes autour des grains de sécrétion qu'elles entourent.

3° Enfin, nous décrirons dans ce paragraphe des paquets de membranes lisses, d'épaisseur fine, de 50 Å en moyenne, et très contrastées; ces membranes sont parfois ondulées et souvent assez longues, atteignant 2 à 3 μ . Leur nombre est toujours pair; par endroits, elles semblent prolonger l'ergastoplasme, qui en diffère par ses membranes peu contrastées, épaisses et rugueuses, flanquées de grains de Palade sur leur bord externe. Nous rapprocherons morphologiquement ces formations cytoplasmiques des membranes sacculaires de l'appareil de Golgi.

2° **L'appareil de Golgi.** Il est très abondant dans les cellules B. Dans presque toutes les cellules, on le trouve constitué de nombreux éléments comportant :

— un paquet de 2 à 3 saccules aplatis et empilés, souvent renflés à leurs extrémités;

— quelques microvésicules au voisinage des extrémités sacculaires;

— de grosses vésicules à membranes lisses et mal définies.

Ces éléments sont souvent groupés et forment un réseau complexe autour du noyau.

A la périphérie de l'appareil de Golgi, on remarque quelques grains de sécrétion et des mitochondries.

3° **Les grains de sécrétion et le chondriome.** — Les grains de sécrétion ne sont pas très nombreux. Souvent assez gros, de 150 à 200 m μ en moyenne, ils sont formés d'une substance homogène très

contrastée qui ne permet pas de distinguer de membrane propre. Un petit intervalle les sépare de leur membrane externe, lisse et fine.

Le chondriome est assez abondant autour des appareils de Golgi; il est fait de mitochondries assez larges, traversées par de petites crêtes transversales. Certaines mitochondries sont remplies d'une substance contrastée, plus ou moins homogène, et seule l'absence de la membrane externe les différencie des grains de sécrétion spécifiques.

4° *Le noyau.* — Il est arrondi ou ovalaire, assez régulier, le rapport N/P est plus grand que 0,5; sa membrane est assez épaisse et il présente parfois un nucléole.

3° *Cellules endocrines A.*

1° *Le cytoplasme.* — Il apparaît clair; on n'y trouve pas de système membraneux généralisé. Seuls quelques fragments de substance amorphe supportent les organites cytoplasmiques.

2° *L'appareil de Golgi.* — On le rencontre fréquemment dans les cellules A. Il y est cependant simple et petit. Il est composé des 3 constituants : sacculaire, microvésiculaire et vacuolaire, qui caractérisent cet appareil. Il est situé à côté du noyau.

A son pourtour, on trouve généralement des petites populations de grains de sécrétion et de mitochondries.

3° *Les grains de sécrétion et le chondriome.* — Les grains de sécrétion sont moins nombreux que normalement; ils sont par ailleurs normaux.

Le chondriome est surtout constitué de petites mitochondries.

4° *Le noyau* est assez gros et souvent irrégulier; le rapport N/P est plus grand que 0,5.

III. — HISTOCHIMIE

ARN : la réaction au vert de méthyle-pyronine donne les résultats suivants :

— cellules endocrines B : il existe un certain degré de pyroninophilie, moins intense qu'au niveau des cellules acineuses, au niveau du cytoplasme des cellules B;

— cellules endocrines A : elles ne prennent pas la réaction;

cellules exocrines : le cytoplasme est pourpre. Les noyaux sont bleus.

Lipides « structurés » : la réaction au noir soudan B colore intensément en noir le cytoplasme de nombreuses cellules B.

Les cellules A et les cellules exocrines ne sont pas colorées.

Groupements —SH : la réaction de Chèvremont et la réaction au néotétrazolium montrent l'existence de groupements —SH dans le cytoplasme de nombreuses cellules B.

Le cytoplasme et, surtout, les grains Z des cellules exocrines sont normalement colorés.

Zinc : il y a une diminution du zinc dans les îlots au niveau des cellules A, après détection par la dithizone et par la réaction de Voigt.

IV. — ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

1° L'activité phosphatasique acide apparaît, au niveau des cellules B, accélérée.

2° L'activité phosphatasique alcaline, à la périphérie des îlots au niveau des cellules A, est diminuée.

E. — RAT SURRÉNALECTOMISÉ

Le pancréas des animaux surrénalectomisés apparaît macroscopiquement gris-rose, non congestif et peu épais.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

La coloration de Mann Dominici montre les acini formés de cellules à cytoplasme bleu; les îlots ont des cellules grises par cette coloration.

La coloration trichrome montre, au pôle apical des cellules acineuses, quelques granulations rouges; les granulations A sont colorées en rose à la périphérie des îlots.

Les colorations spécifiques des grains B à la fuchsine paralaldéhyde montrent ces derniers peu nombreux au niveau des cellules B.

La coloration à l'Azan montre des granulations A, dans les cellules A, colorées en rouge et assez nombreuses.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° *Cellules exocrines* (pl. XIV, fig. 1 et 2).

Les lumières acineuses apparaissent souvent vides; leur paroi est peu accidentée.

1° Le cytoplasme. — Il est généralement fait d'un ergastoplasme formé de doubles lamelles, souvent fragmentées et séparées d'intervalles larges. Les grains de Palade, disposés sur leur bord externe, sont généralement plus écartés les uns des autres que normalement.

2° L'appareil de Golgi. — La région golgienne apparaît en général étroite et claire, faite de grosses vésicules assez allongées, parfois groupées par 2 à 3 et sur lesquelles repose un paquet de petits saccules relativement peu contrastés, peu nombreux et présentant, à leurs extrémités, de rares vésicules.

3° Les grains de sécrétion et le chondriome (pl. XV, fig. 3). — Les grains de sécrétion Z sont arrondis et de taille normale. Ils sont formés d'une substance assez faiblement contrastée, ce qui permet de mieux souligner leur membrane, plus contrastée, lisse et de diamètre moyen de 70 Å.

Il existe également dans certaines cellules des grains vides, ou présentant une dégénérescence hydropique.

Le chondriome est fait d'assez nombreuses mitochondries à côté des grains de sécrétion et également dans la partie basale de la cellule, mêlées à l'ergastoplasme, dans l'espace contrasté délimité par ces derniers. Ces mitochondries sont assez épaisses et massives et présentent de longues crêtes transversales.

4° Le noyau. — Il est plus ou moins irrégulièrement arrondi, le rapport N/P est plus petit que 0,5; on y rencontre parfois un nucléole structuré, peu contrasté et central.

2° *Cellules endocrines B.*

1° Le cytoplasme. — Il apparaît assez dense; il est fait de substance amorphe, faiblement contrastée, dans laquelle on retrouve des fragments de membrane et souvent, dans ces cellules, de petites vésicules plus ou moins aplaties. On y rencontre également des grains de Palade, à contraste dense et de diamètre moyen de 140 Å, et aussi quelques cisternæ ergastoplasmiques, au bord des cellules principalement.

2° *Appareil de Golgi.* — Il apparaît simple, formé de 3 ou 4 vacuoles assez petites, que coiffent 1 ou 2 saccules aplatis, formés d'une membrane moyennement ou assez faiblement contrastée. A l'extrémité des saccules, on trouve de petites vésicules assez rares.

3° *Les grains de sécrétion et le chondriome.* — Les grains de sécrétion sont très peu nombreux et alors normaux. On les trouve mêlés aux mitochondries autour de l'appareil de Golgi. Ils sont faits d'une substance homogène à contraste dense, et l'intervalle qui les sépare de la membrane externe est très étroit.

Le chondriome est relativement abondant; il est formé de chondriocotes petits et coudés et surtout de mitochondries.

Quelques mitochondries présentent une substance irrégulièrement contrastée, leur donnant ainsi l'aspect d'un grain de sécrétion.

4° *Le noyau* est arrondi et régulier, il est assez gros, le rapport N/P est plus grand que 0,5; sa membrane est épaisse; on y trouve parfois un nucléole central et petit.

3° Cellules endocrines A.

Les cellules A ne semblent pas modifiées par la surrenalectomie : leur cytoplasme est clair, l'appareil de Golgi simple est formé de saccules, d'assez nombreuses petites vésicules et de grosses vésicules plus ou moins aplaties; les grains de sécrétion sont nombreux et mêlés aux mitochondries. Ils sont légèrement plus grands que ces dernières. Le noyau est assez gros.

III. — HISTOCHIMIE

ARN : la réaction au vert de méthyle-pyronine donne les résultats suivants :

— cellules exocrines : le cytoplasme apparaît pourpre, pyroninophile;
— cellules endocrines : elles apparaissent en gris, leur cytoplasme n'étant pas pyroninophile.

Les noyaux sont colorés en bleu-vert.

Lipides « structurés » : la réaction au noir soudan B montre une diminution d'intensité de la soudanophilie au niveau du cytoplasme de nombreuses cellules B.

Groupements —SH : il y a diminution également de l'intensité de la réaction de Chèvremont, au niveau du cytoplasme des cellules B et des cellules exocrines.

Zinc : il y a une diminution de la coloration de Voigt, au sulfure d'argent, au niveau des granulations A des cellules A.

IV. — ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

1° L'activité phosphatasique acide semble ralentie au niveau des cellules B.

2° L'activité phosphatasique alcaline apparaît également ralentie au niveau des cellules A.

F. — RAT TRAITÉ AU COBALT

Nous décrivons le pancréas de Rat adulte ayant reçu 15 mg de chlorure de cobalt quotidiennement pendant 4 jours en injection sous-cutanée. Nous n'avons retenu que les Rats traités qui ne présentaient pas de troubles cliniques graves (coma ou convulsions). Le pancréas est apparu, à l'autopsie, gris foncé.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

Une coloration au Mann Dominici montre les acini avec leurs cellules colorées en bleu à la partie basale et les îlots, gris, dans lesquels les sinus vasculaires apparaissent dilatés. Ces îlots sont plus nombreux que chez le sujet normal; toutefois, cette polynésie discrète n'est pas comparable avec celle décrite chez le Cobaye par VAN CAMPENHOUT (1952).

La coloration trichrome montre des granulations Z légèrement diminuées, colorées en rouge au pôle apical des cellules acineuses.

Les colorations spécifiques des granulations endocrines (fuchsine paraldéhyde de Gomori, et Azan) montrent une diminution légère des granulations B et des granulations A.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines.

Le cytoplasme des cellules est fait d'ergastoplasme à forme vésiculaire : ce sont de petits fragments de doubles lamelles rugueuses et de petites cisternæ. Les grains de Palade accolés au bord externe des membranes sont plus espacés les uns des autres que normalement.

L'appareil de Golgi supranucléaire est généralement formé de quelques grosses vacuoles accolées en paquets.

Les grains de sécrétion sont moins nombreux et plus petits que chez le Rat adulte normal. Les mitochondries peu nombreuses sont souvent déformées, parfois gonflées, et leurs crêtes disparaissent dans la substance irrégulièrement contrastée qui les remplit. Il existe dans les cellules acineuses, quelques corpuscules étoilés lipidiques. Ces résultats correspondent à ceux trouvés chez le Cobaye par LACY et CARDEZZA (1958).

Le noyau basal est assez gros, régulier et entouré d'une membrane épaisse. Son centre contient une substance irrégulièrement dense.

2° Cellules endocrines B.

Les cellules B que nous avons observées au microscope électronique sont apparues normales.

3° Cellules endocrines A.

Le cytoplasme est formé d'assez larges espaces lacunaires : quelques plages de substance amorphe abritent de rares grains de sécrétion par ailleurs normaux, avec leur diamètre moyen de 200 Å et leur substance homogène très contrastée. Le chondriome est fait de chondriocentes plus massifs que normalement, et dont les crêtes mêlées à une substance centrale irrégulièrement contrastée sont mal définies.

III. — HISTOCHIMIE ET ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

ARN : la réaction au vert de méthyle-pyronine précise la pyroniophilie des cellules exocrines; quelques îlots apparaissent faiblement en rose et les noyaux sont bleus.

Lipides : la réaction au NSB après oxydation montre la présence des lipides au niveau du cytoplasme des cellules B, en moins grande quantité que chez l'animal normal.

Métaux lourds : la réaction de Voigt et celle à la dithizone *in vivo* montrent l'existence d'un métal lourd divalent au niveau des cellules insulaires A et B. Dans ce cas particulier, il est impossible d'identifier le métal (cobalt ou zinc).

Activité phosphatasique : les activités phosphatasiques acides et alcalines sont très accélérées.

CHAPITRE VI

ÉTUDE DESCRIPTIVE DES CELLULES SÉCRÉTRICES DU PANCRÉAS D'EMBRYON DE RAT MIS EN CULTURE

Premier stade :

FRAGMENT DE PANCRÉAS D'EMBRYON DE RAT AGÉ DE 16 JOURS ET CULTIVÉ QUATRE JOURS EN MILIEU STANDARD

Lorsque la culture est bonne, le fragment de pancréas apparaît à la loupe binoculaire (Gt 40) translucide et bleuâtre, piqué d'acini. Les quelques zones de dégénérescence sont opaques; cependant, à cet âge, les cultures sont en bon état.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

L'étude au microscope optique, après coloration au trichrome, montre que le fragment est constitué de tubules présentant de larges cavités, mêlés à du tissu mésenchymateux; on trouve également des cellules disposées en rayons autour d'une lumière très petite, ainsi que des cordons de petites cellules disposées en îlots.

La lumière des cellules acineuses est petite et vide; sa paroi épaisse est faite d'une membrane présentant de rares digitations filiformes.

Les cellules acineuses ont un cytoplasme coloré en rose pâle au trichrome; elles présentent, dans la région supranucléaire, quelques granulations assez grosses de 200 à 500 m μ , colorées en rouge.

Les cellules endocrines sont formées de quelques cellules polygonales, 5 à 6 par îlot. Leur noyau est très gros et leur cytoplasme apparaît gris au trichrome. Les colorations spécifiques à la fuchsine paraldéhyde et à l'Azan sont négatives.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines.

1° *Le cytoplasme.* — Il est plus ou moins dense suivant les cellules; il est parfois clair et alors formé de quelques grains seulement, à contraste moyen ou dense, à diamètre moyen de 140 Å, isolés ou plus souvent groupés en petits paquets de 2 ou 3 sur un fond de substance faiblement contrastée. D'autres fois, on rencontre des doubles lamelles, situées surtout à la base des cellules; ces lamelles d'épaisseur moyenne de 80 Å et de contraste assez faible sont flanquées de grains de Palade plus ou moins régulièrement disposés sur leur bord externe; elles laissent un intervalle clair d'épaisseur variable, parfois présentant des dilatations ampullaires ou, au contraire, des étranglements; elles sont petites, de 0,3 à 0,4 μ de long le plus souvent, formant des lignes flexueuses, généralement peu nombreuses, 3 à 4 par section de cellules.

2° *L'appareil de Golgi.* — Dans la région supranucléaire, apparaissent des éléments formés de petites vacuoles plus ou moins arrondies, de diamètre de 200 à 500 μ , présentant une membrane d'épaisseur mal définie et à contraste faible; ces vésicules sont parfois coiffées d'une zone formée d'un fond peu contrasté, sur lequel apparaissent de petites vésicules rangées en deux ou trois strates. Bien que la constituante sacculaire n'apparaisse pas dans nos conditions d'observation, la topographie supranucléaire de ces éléments les rattache à des constituants de l'appareil de Golgi.

Les rapports de ces éléments avec les grains de sécrétion et les mitochondries, situées à leur périphérie, sont directs. Les filaments ergastoplasmiques respectent la région golgienne.

3° *Les grains de sécrétion et le chondriome.* — Les grains de sécrétion apparaissent peu nombreux autour de la région golgienne dans la partie supranucléaire de la cellule; arrondis ou ovalaires, assez gros, de 300 à 500 μ de diamètre moyen, ils sont formés d'une substance homogène à contraste moyen et parfois même assez faible; ils possèdent une membrane de diamètre moyen de 70 Å et de contraste dense, qui apparaît davantage dans cette situation du grain.

Mêlées à ces grains, se rencontrent des granulations qui ne possèdent pas de substance centrale contrastée ou encore qui présentent une substance remplissant incomplètement le grain.

Le chondriome montre quelques rares mitochondries assez épaisses et traversées de crêtes.

Grains et mitochondries, situés autour de l'appareil de Golgi, ne sont cependant pas spécialement polarisés vers la lumière excrétrice, comme chez l'adulte. Les formations ergastoplasmiques voisines sont rares et n'ont pas de rapports directs avec les grains.

4° Le noyau. — Il est de taille moyenne; le rapport N/P est plus petit que 0,5; le noyau est situé à la base de la cellule, il est souvent irrégulier et présente une membrane assez épaisse. Son centre assez dense contient souvent un nucléole structuré en position centrale.

2° Cellules endocrines.

1° Le cytoplasme. — Il est formé de quelques grains à contraste dense et de diamètre moyen 140 Å; on y trouve également quelques rares doubles membranes ergastoplasmiques à côté du noyau.

2° L'appareil de Golgi. — On ne rencontre pas d'appareil de Golgi caractéristique; dans quelques cellules cependant, à côté du noyau, on remarque des éléments vacuolaires de 80 à 100 m μ de diamètre, entourés d'une membrane à faible contraste, isolés ou groupés en petits paquets de 2 ou 3 et parfois coiffés d'un ou deux saccules empilés; ces saccules sont formés d'une membrane à contraste faible et sont terminés par de rares petites vésicules à membrane également faiblement contrastée; autour de ces formations, se trouvent de petites populations de mitochondries.

3° Les grains de sécrétion et le chondriome. — Il n'y a pas de granulations endocrines caractéristiques, c'est-à-dire de grains de diamètre moyen de 100 à 150 m μ et formés d'une substance homogène et très contrastée.

Le chondriome est fait de petits chondriocentes et de quelques mitochondries; la membrane qui les borde a un diamètre moyen de 70 Å et est contrastée; ils sont remplis irrégulièrement d'une substance plus ou moins pelotonnée et qui peut paraître comme un grain de sécrétion peu contrasté.

4° Le noyau. — Le noyau apparaît irrégulier, souvent polylobé et généralement gros; sa membrane est épaisse et de contraste dense.

III. — ÉTUDES HISTOCHIMIQUES ET ENZYMATIQUES

ARN : la réaction au vert de méthyle-pyronine est faiblement positive au niveau du cytoplasme des cellules exocrines et endocrines. Les noyaux endocrines et exocrines présentent une certaine pyroninophilie.

Lipides « structurés » : la réaction au noir soudan B après oxydation est également positive au niveau des cellules endocrines et exocrines.

Groupements —SH : la réaction de Chèvremont est négative au niveau des cellules endocrines et exocrines. Seules, quelques plages des cellules acineuses présentent la coloration bleu de Turnbull.

Métaux lourds : la réaction de Voigt est négative.

La recherche des activités phosphatasiques acides et alcalines non spécifiques s'est avérée négative dans nos conditions d'expérience, de même que l'activité ribonucléasique.

Deuxième stade :

FRAGMENT DE PANCRÉAS D'EMBRYON DE RAT AGÉ DE 18 JOURS ET CULTIVÉ QUATRE JOURS EN MILIEU STANDARD

Une bonne culture, qui apparaît translucide à la loupe binoculaire, montre la disposition en acini de la glande. A ce stade, le rendement des cultures est légèrement moins bon que précédemment et quelques cultures sont éliminées par suite de processus nécrotiques généralisés.

I. — MICROSCOPIE OPTIQUE

L'étude au trichrome montre l'existence d'acini et, dans certaines cultures, de cordons formés de quelques petites cellules polygonales, insulaires. Les cellules acineuses, disposées autour d'une lumière, présentent quelques végétations filiformes, apparaissent colorées en rose à la base ; leur pôle apical présente des grains colorés en rouge.

Les cellules insulaires ne sont pas colorées et apparaissent en gris. Les colorations spécifiques à la fuchsine paraldéhyde et à l'Azan sont négatives.

II. — MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1° Cellules exocrines (pl. XVII, fig. 1, et pl. XVIII).

1° *Le cytoplasme.* — Il apparaît formé de doubles lamelles épaisses de 70 Å en moyenne, faiblement contrastées et flanquées sur leur bord externe de grains de Palade, distants les uns des autres de 200 à 500 Å de moyenne. Ces doubles lamelles ergastoplasmiques sont assez longues, elles peuvent atteindre 3 ou 4 μ de long, traçant des lacets ou s'enroulant même, s'organisant en Nebenkern. L'on ne trouve, à cet âge, que très rarement, des grains de Palade isolés ou en amas.

2° *L'appareil de Golgi.* Dans la région supranucléaire, se trouvent des formations vacuolaires de 0,1 à 0,2 μ de diamètre, parfois géantes, atteignant 0,8 μ et entourées d'une membrane d'épaisseur mal définie, à contraste faible et souvent ouverte en C; ces vacuoles sont parfois réunies en petits paquets; à côté d'elles, ou les coiffant, peuvent se trouver une ou deux rangées de petits saccules aplatis de 0,5 μ de long, en moyenne, reposant sur un fond faiblement contrasté, et terminés par de rares petites vésicules. L'appareil de Golgi est typique dans cette description; cependant, la constituante macrovésiculaire est habituellement dominante.

L'appareil de Golgi est en rapport direct avec les grains de sécrétion et les mitochondries; il est souvent séparé du noyau par 2 ou 3 lamelles doubles ergastoplasmiques.

3° *Les grains de sécrétion et les mitochondries.* — Les grains de sécrétion, bien que plus nombreux qu'au stade précédent, ne sont pas aussi abondants que dans les cellules acineuses des pancréas d'embryons de même âge et non cultivés. Ils sont arrondis ou ovaires, assez gros. Leur substance est homogène, à contraste moyen, et ainsi ce stade montre une membrane légèrement plus contrastée entourant les grains.

Le chondriome : les quelques mitochondries moins nombreuses que celles rencontrées dans les cellules pancréatiques de même stade non cultivées sont mêlées aux grains de sécrétion.

De même taille, de même forme, possédant la même membrane, mitochondries et grains de sécrétion présentent des figures intermédiaires; ce sont des mitochondries incomplètement remplies de la substance contrastée du grain Z, ou encore des grains Z formés d'une substance non homogène et qui présentent des restes de crêtes.

Mitochondries et grains de sécrétion, situés dans la région supranucléaire de la cellule, ne sont pas polarisés vers la lumière sécrétrice; ils sont au pourtour de l'appareil de Golgi, en rapport direct avec lui; quelques rares filaments ergastoplasmiques sont à leur voisinage, sans rapport avec les grains.

4° *Le noyau.* — Il est assez petit, le rapport N/P est plus petit que 0,5; il est généralement arrondi et présente une membrane épaisse; sa substance est dense et contient souvent un nucléole structuré et central.

2° *Cellules endocrines* (pl. XVII, fig. 2).

1° *Le cytoplasme.* — Assez dense, il apparaît constitué de cisternæ ergastoplasmiques, sur le bord externe desquels se trouvent des grains à contraste dense et de diamètre moyen de 140 Å. Des grains de Palade apparaissent également dans le cytoplasme isolés ou en paquets.

2° *L'appareil de Golgi.* — Dans nos conditions d'observation, nous n'avons pas observé d'appareil de Golgi caractéristique; on trouve certes des vacuoles de 100 à 200 m μ de diamètre, à membrane faiblement contrastée et d'épaisseur mal définie, isolées ou en petits paquets; on peut trouver également quelques petites vésicules sur un fond faiblement contrasté et coiffant les vacuoles; mais il n'y a pas de formation sacculaire vraie.

3° *Les grains de sécrétion et le chondriome.* — Confirmant les données de l'optique, on ne trouve pas, en général, de granulations endocrines spécifiques, c'est-à-dire définies au microscope électronique par leur diamètre moyen de 150 à 200 m μ et leur substance homogène centrale très contrastée. On peut rencontrer cependant dans quelques cellules des grains, petits, de diamètre moyen de 80 m μ et contrastés.

Le chondriome que l'on voit autour des formations décrites dans l'appareil de Golgi est fait de quelques chondriocentes et de mitochondries; leur substance centrale est irrégulièrement contrastée et faite parfois d'une substance pelotonnée.

4° *Le noyau.* — Le noyau des cellules est très gros, souvent échancré et souvent polylobé; sa membrane est épaisse et son centre dense: il présente un nucléole assez pâle.

III. — ÉTUDES HISTOCHIMIQUES ET ENZYMATIQUES

ARN: le cytoplasme des cellules exocrines et endocrines est pyroninophile.

Lipides « structurés »: la réaction au noir soudan B est négative au niveau du cytoplasme de cellules endocrines et exocrines.

Groupements —SH : la réaction de Chèvremont n'est positive qu'au niveau de la région supranucléaire des cellules acineuses.

La détection de l'activité phosphatasique alcaline est négative; la détection de l'activité phosphatasique acide, dans nos conditions d'expérience, s'est montrée négative dans le cytoplasme des cellules insulaires, mais positive au sein du noyau de ces cellules; les cellules exocrines ne présentent pas d'activité phosphatasique acide.

Troisième stade :

FRAGMENT DE PANCRÉAS D'EMBRYON DE RAT AGÉ DE 20 JOURS ET CULTIVÉ QUATRE JOURS EN MILIEU STANDARD

L'examen à la loupe binoculaire (Gt 40) permet de préciser l'état des cultures. Souvent, l'opacité des fragments traduit leur nécrose. On arrive cependant parfois à une bonne culture d'apparence translucide et où les formations acineuses se reconnaissent.

1. — ÉTUDE MORPHOLOGIQUE DES CELLULES SÉCRÉTRICES A CET ÂGE

Il n'y a pas de différence sensible avec le stade précédent, dans notre étude au microscope optique et au microscope électronique.

Les cellules exocrines présentent des grains de sécrétion assez gros, assez nombreux, moins cependant que dans celles de l'embryon de même âge; elles sont, de plus, moins contrastées.

L'ergastoplasme, moins abondant que chez l'embryon de même âge, présente encore des filaments organisés en Nebenkern.

L'appareil de Golgi est à prédominance vacuolaire; si l'on aperçoit quelques saccules, en paquets de 1 ou 2, leur membrane est assez faiblement contrastée.

Le noyau est un peu plus gros que normalement; de plus, il est irrégulier.

La cellule endocrine présente des mitochondries assez nombreuses, parfois remplies d'une substance irrégulièrement contrastée et lui donnant une apparence de grains de sécrétion incomplets.

Le cytoplasme est constitué de substance amorphe et, par endroit, forme des alvéoles assez larges, à l'intérieur desquelles se trouvent souvent des restes de grains de sécrétion dégénérés.

II. — IMAGES DE DÉGÉNÉRESCENCE OBTENUES EN CULTURE D'ORGANE

Les descriptions précédentes concernaient essentiellement des cultures bien conservées; cependant, surtout aux stades avancés, le nombre des cultures nécrosées est appréciable.

Dans des cultures bien conservées, certaines cultures présentent même des images de dégénérescence à côté de structures normales.

Ainsi, le noyau pourra apparaître très dense et irrégulier, polylobé.

Les mitochondries peuvent donner des images vacuolaires, le plus souvent éclatées; on y trouve également des figures myéliniques.

Les grains de sécrétion :

— exocrines : leur bord devient irrégulier, échancré, et leur substance pâlit et se rétracte;

— endocrines : généralement, l'alvéole cytoplasmique qui le contient est très large et le grain punctiforme.

L'appareil de Golgi : en dehors de la constituante vacuolaire généralement dominante dans les cellules, lorsque l'appareil de Golgi dégénère, il se forme une masse très contrastée, amorphe et irrégulière, que seule la topographie supranucléaire permet d'identifier au niveau des cellules exocrines en reste golgien.

III. — RÉSULTATS DES CULTURES ISOLÉES EN MILIEU STANDARD

Notre étude descriptive des cellules sécrétrices de fragments de pancréas d'embryon de Rat, d'âge varié et cultivé isolément en milieu standard, montre que les cellules pancréatiques peuvent vivre isolément en culture et, même pour les stades jeunes, acquérir un certain degré de différenciation.

Cependant, les cellules exocrines conservent des grains de sécrétion et même en élaborent; ces derniers sont moins contrastés et moins nombreux que normalement.

Par contre, les cellules endocrines ne présentent généralement pas de grains de sécrétion spécifiques.

Les appareils de Golgi, lorsqu'ils ne sont pas dégénérés, apparaissent atrophiés : saccules rares, petits, à membrane peu contrastée, petites vésicules peu nombreuses et composantes vacuolaires prédominantes.

Ces données morphologiques nous autorisent à admettre que la fonction endocrine du pancréas ne peut s'acquérir ou se conserver sur l'organe isolé, cultivé en milieu standard. Un facteur exogène est nécessaire à la fonction endocrine.

PANCRÉAS ENDOCRINE FONCTIONNEL
EN CULTURE D'ORGANE.

PANCRÉAS ET SURRÉNALES

L'étude descriptive, faite sur des fragments de pancréas mis en culture, montre des images d'atrophie des processus morphologiques de la sécrétion. Nous les avons rapprochés des résultats obtenus chez des Rats surrénalectomisés.

EXPÉRIENCES FONDAMENTALES DE PARABIOSE

Première expérience.

Dans une première série de culture pratiquée chez des embryons âgés de 19 jours, de petits fragments de pancréas ont été associés en mosaïque à de petits fragments surrénaliens et mis en culture sur milieu standard. Après 4 jours de culture à l'étuve à 37°, les fragments non nécrosés ont été prélevés et fixés au Palade, au formol salé et au formol de Baker, pour une étude cytologique. Des témoins, des fragments de pancréas d'embryon de même âge, sans association surrénalienne, ont subi le même traitement.

Résultats morphologiques. — Le tissu insulaire apparaît très abondant; les plages de tissu sain sont faites de petites cellules ayant perdu toute polarité. Au microscope électronique (pl. XIX, fig. 1 et 2) :

— le cytoplasme des cellules, assez dense, ne contient pas de lamelles ergastoplasmiques;

— les grains de sécrétion sont assez nombreux; ce sont de petites granulations arrondies, de diamètre moyen de 200 m μ , et formées d'une substance homogène très contrastée; parfois, elles sont entourées de la fine membrane qui caractérise les granulations endocrines;

— le chondriome est fait de petits chondriocontes et de quelques rares mitochondries;

— le noyau des cellules est gros et central;

— les cellules exocrines et les cellules insulaires se rencontrent côte à côte autour d'une lumière. Les cellules exocrines, à noyau basal, parfois irrégulier, présentent le plus souvent des granulations Z très contrastées et irrégulièrement bordées.

De plus, des images vacuolaires de mitochondries se distinguent dans le cytoplasme de ces cellules.

L'étude histochimique a permis de détecter des lipoprotéines par la réaction au noir soudan B, après oxydation, au sein de nombreux cytoplasmes cellulaires. De même, l'activité phosphatasique acide, recherchée par la méthode de Gomori, s'est montrée intense au niveau de nombreuses cellules.

Les témoins, par contre, montrent des plages de cellules exocrines, disposées régulièrement en acini; leur cytoplasme contient quelques membranes ergastoplasmiques et, au pôle apical, quelques granulations Z normales.

Les rares cellules endocrines rencontrées montrent d'assez nombreuses petites mitochondries et l'absence de granulations spécifiques.

Il arrive cependant de voir dans une cellule, et mêlés aux nombreuses mitochondries, 2 ou 3 grains à contraste moyen ou formés d'une substance non encore homogène.

Le plus souvent, ce sont des alvéoles formées des membranes externes, à l'intérieur desquelles le grain n'existe plus, qui se rencontrent.

L'étude histochimique a précisé l'absence de lipoprotéines « structurées », détectables au noir soudan B après oxydation, dans les explants témoins.

L'étude des activités phosphatasiques acides s'est révélée négative dans nos conditions d'expérience.

Deuxième expérience.

Une deuxième expérience a permis la culture de fragments de pancréas d'embryon de 16 jours en association avec des fragments de surrénales d'embryon âgé de 19 jours sur milieu standard. Après 5 jours de culture à l'étuve à 37°, les fragments de pancréas ont été fixés au Palade pour une étude au microscope électronique.

Cette étude morphologique a révélé l'existence d'assez nombreuses cellules endocrines. Ces cellules apparaissent groupées, parfois situées à côté de cellules exocrines, ayant perdu leur polarité et bordant une lumière acineuse.

Ces cellules insulaires ont un cytoplasme assez dense et dépourvu d'ergastoplasme. On y trouve des granulations de diamètre de 200 m μ en moyenne, formées d'une substance homogène très contrastée, et caractéristiques des cellulaires insulaires (pl. XX, fig. 1, 2 et 3).

D'autres fois, des cellules présentent d'assez nombreuses mitochondries, petites et mêlées à quelques granulations spécifiques.

Les cellules exocrines présentent également quelques granulations Z; ces dernières apparaissent grandes, plus contrastées que

normalement et irrégulièrement bordées. Leur cytoplasme présente un aspect vésiculaire.

Les témoins montrent surtout des cellules acineuses, avec quelques grains de zymogène au pôle apical des cellules.

Les cellules endocrines plus rarement rencontrées présentent essentiellement de petites mitochondries, associées à de rares grains, dont la substance est irrégulièrement contrastée.

Ces expériences fondamentales nous autorisent à conclure qu'un facteur exogène d'origine surrénalienne est nécessaire pour conserver ou même induire, à partir d'une ébauche de différenciation (embryon de 16 jours), le processus morphologique de la fonction endocrine du pancréas chez le rat.

CHAPITRE VII

DISCUSSION

A. — CYTOLOGIE

LE CYTOPLASME ET LA CELLULE SÉCRÉTRICE PANCRÉATIQUE

1° Cytoplasme des cellules exocrines : ergastoplasme (pl. IV, fig. 1).

1° Genèse. — Jusqu'au 19° ou 20° jour de la vie embryonnaire, le cytoplasme apparaît, dans nos conditions d'expérience, granulaire; il est formé de grains à diamètre moyen de 140 Å et à contraste fort, correspondant aux grains de Palade (p. 40). Ces derniers sont isolés ou plus généralement groupés en paquets. On y rencontre également quelques vésicules de 0,2 à 0,5 μ de diamètre moyen, sur le bord externe desquelles des grains de Palade sont régulièrement disposés, et quelques rares petites lamelles doubles ergastoplasmiques, surtout au niveau de la région supranucléaire. C'est seulement à partir du 20° jour et progressivement que le cytoplasme se remplit d'ergastoplasme, d'abord dans la région basale autour du noyau, où on le rencontre parfois organisé en Nebenkern, puis dans la région supranucléaire, qui va ainsi former dans la cellule un réseau dense et feuilleté, lequel prendra sa forme adulte vers le 10° jour de sa vie extra-utérine.

2° Morphologie. — L'ergastoplasme est défini par sa morphologie; c'est un réseau formé de doubles lamelles, d'épaisseur moyenne de 80 Å et assez faiblement contrastées. Ces lamelles sont séparées par

un intervalle variable de 60 Å en moyenne et sont flanquées, sur leur bord externe, de grains de Palade régulièrement disposés. Au niveau du pancréas, l'ergastoplasme délimite, dans le cytoplasme, deux zones :

— un espace clair non contrasté entre les doubles lamelles ou à l'intérieur des cisternæ ;

— un espace de substance faiblement contrastée qui contient les grains de Palade.

3° Chimie. — La présence d'ARN explique la basophilie du cytoplasme. PALADE et SIECKIWITZ (1956) ont d'ailleurs précisé que les grains de Palade supportaient morphologiquement l'ARN, alors que la composante membraneuse était lipoprotidique.

Nous noterons également l'absence de système enzymatique expliquant la dégradation biochimique de l'ARN ou des lipoprotéines dans le cytoplasme.

4° Rapports. — Rapports avec le noyau : l'ergastoplasme apparaît au début près du noyau ; il a des rapports directs avec ce dernier et avec sa membrane qui, par endroit, semble en continuité avec lui.

— Rapports avec les grains de sécrétion et les mitochondries : l'ergastoplasme qui se forme dans la partie basale de la cellule n'a pas, au début de l'organogenèse, de contacts directs avec les mitochondries et les grains de sécrétion qui le précèdent et qui sont situés dans la région supranucléaire. Lorsque l'ergastoplasme envahira la région supranucléaire, les grains de sécrétion qui sont dans l'espace cytoplasmique contrasté auront des rapports plus intimes avec les feuillettes ergastoplasmiques, qui vont les entourer et qui, par endroit, formeront aux grains une véritable membrane, rendue rugueuse par la présence des grains de Palade.

— Rapports avec l'appareil de Golgi : nous avons vu chez l'adulte que l'ergastoplasme respectait la zone golgienne : cependant, dans l'organogenèse, avant la formation du système membraneux, cisternæ ergastoplasmiques à bord externe rugueux et vacuoles golgiennes à bord lisse sont mêlés dans la région supranucléaire, de même que les grains de Palade et les microvésicules.

5° Rôle. — L'ergastoplasme joue un rôle fondamental dans la sécrétion exocrine. Si l'ergastoplasme ne forme pas le grain de sécrétion — comme le pense avec réserve PALADE (1958) — puisque le grain préexiste à l'ergastoplasme, l'apparition de l'ergastoplasme entraîne cependant une augmentation considérable du nombre des grains de sécrétion.

De plus, les variations physiologiques et expérimentales de la

sécrétion s'accompagnent de variations de l'ergastoplasme. Ainsi, chez l'animal surrénalectomisé, les intervalles clairs entre les lamelles sont plus larges; chez l'animal affamé, l'écartement des grains de Palade est plus grand; de même, l'abondance de l'ergastoplasme est moindre. L'animal alloxanisé présente de nombreuses vésicules ergastoplasmiques.

6° Cas particulier. — Au niveau du halo péri-insulaire, l'ergastoplasme a une forme vésiculaire et contient des corpuscules lipidiques.

2° Cytoplasme des cellules endocrines (pl. IV, fig. 2).

1° Genèse. — Jusqu'au 19^e ou 20^e jour, le cytoplasme est granulaire; il est composé de petites granulations de diamètre moyen de 140 Å et de contraste dense, les grains de Palade, qui sont mêlés à de petites vésicules. On trouve également quelques rares cisternæ ergastoplasmiques et même de petites doubles lamelles. C'est à partir du 20^e jour et progressivement qu'en même temps que disparaissent les petites granulations, le cytoplasme se remplit d'une composante membraneuse, moins nettement définie et plus variable que l'ergastoplasme et responsable de l'aspect dense de la cellule.

2° Morphologie. — Le cytoplasme des cellules B est formé d'un système membraneux qui apparaît, dans nos conditions d'expérience, assez variable :

— sur un fond de substance amorphe faiblement contrastée, on trouve des fragments de membranes lisses, d'épaisseur et de contraste variables;

— au niveau des grains de sécrétion, la membrane devient nette, de diamètre moyen de 50 Å, assez fine et de contraste moyen ou dense; elle forme une véritable membrane externe aux grains de sécrétion;

— enfin, plus rarement, surtout au niveau des membranes plasmiques ou près du noyau, quelques petites doubles lamelles ergastoplasmiques, flanquées sur leur bord externe de grains de Palade plus ou moins régulièrement disposés, peuvent se rencontrer.

3° Chimie. — La variabilité morphologique de ce système membraneux nous empêche de l'identifier à la composante membraneuse de l'ergastoplasme. Cependant, l'existence de ce système explique la présence de lipoprotéines et la coloration sombre des cellules B, après fixation osmiée.

Nous noterons également la présence, dans le cytoplasme des

cellules B, d'un système enzymatique de dégradation de l'ARN et l'absence de système enzymatique rendant compte de la dégradation des lipoprotéines.

4° *Rapports.* Les rapports sont nets avec les granulations B, que le système membraneux entoure.

5° *Rôle.* — Notre étude n'a pas pu préciser le rôle de ce système dans la sécrétion. Cependant, l'on peut souligner que c'est avec son apparition que la formation des granulations B est devenue importante.

De plus, les variations expérimentales s'accompagnent de modifications de ce système; ainsi, chez l'animal surrénalectomisé, le système membraneux est assez lâche et peu dense; chez l'animal alloxanisé, il y a apparition de vésicules sur le bord externe desquelles sont disposées quelques granulations contrastées. ALLARA (1953) décrit l'existence d'ergastoplasme optiquement décelable après administration de glucose.

3° *Cytoplasme des cellules A* (pl. IV, fig. 3).

Le cytoplasme des cellules A est clair; il ne contient pas de système membraneux; seuls, quelques débris de substance amorphe, sur lesquels les organites cytoplasmiques reposent, le constituent.

Chimie. L'absence de grains de Palade et d'ARN, l'absence de système membraneux et de lipoprotéines, s'accompagne de système enzymatique, expliquant la dégradation enzymatique de l'ARN et la dégradation enzymatique des lipoprotéines (estérases).

	CELLULES EXOCRINES	CELLULES B	CELLULES A
GRAINS DE PALADE OU ARN	+	—	
MEMBRANES OU LIPOPROTÉINES	+	+	—
RIBONUCLÉASES. PHOSPHODIESTÉRASES. PHOSPHATES NON SPÉCIFIQUES		+	+
ESTÉRASES OU LIPASES	—	—	+

B. — CYTOPHYSIOLOGIE

I. — *PROCESSUS MORPHOLOGIQUES
DES SÉCRÉTIONS PANCRÉATIQUES*1° *Appareil de Golgi.*

1° *Topographie.* — Dans la cellule exocrine, l'appareil de Golgi est localisé dans la région supranucléaire.

— Dans la cellule endocrine, il est plus diffus et formé d'unités plus petites; il est le plus souvent proche du noyau, l'entourant d'une couronne.

2° *Morphologie.* — L'appareil de Golgi des cellules pancréatiques est formé de dictyosomes, souvent groupés en paquet et formant des réseaux plus ou moins complexes. Le dictyosome est caractérisé par ses différents constituants :

— les piles de saccules, qui reposent sur un fond contrasté; en général paucisacculaire, 2 ou 3, rarement 4 saccules aplatis et empilés, formés d'une membrane lisse, fine et à contraste dense, ces saccules sont renflés à leurs extrémités;

— les vésicules osmiophiles de diamètre moyen de 200 à 300 Å, aux extrémités des saccules;

— les grosses vésicules, qui forment la substance chromophobe. Elles ont une membrane lisse, épaisse et souvent mal définie. Elles sont habituellement coiffées par le paquet de saccules.

3° *Genèse.* A. — CELLULE EXOCRINE. — Un résumé de notre étude descriptive de l'appareil de Golgi des cellules sécrétoires du pancréas de l'embryon du Rat nous permet de préciser l'existence, au 16^e jour (1^{er} âge étudié), de dictyosomes golgiens. A ce stade, les dictyosomes sont paranucléaires, petits et peu nombreux. On les distingue à un faible grossissement par la traînée grisâtre, osmiophile, que forme sa substance chromophile, formée surtout de microvésicules contrastant avec le reste du cytoplasme, clair et granuleux. Notre étude ne nous a pas permis de rencontrer à ce stade de saccules.

Du 17^e au 20^e jour, l'appareil de Golgi est de plus en plus abondant et les dictyosomes sont plus nombreux (pl. 7, fig. 1). La substance chromophile est faite de quelques saccules aplatis, de plus en plus nombreux avec l'âge, et de microvésicules à leurs extrémités; la substance chromophobe est formée de vésicules lisses de petit diamètre. Les mitochondries et quelques grains de sécrétion entourent l'appareil de Golgi.

A 21 jours, les vacuoles de la substance chromophobe sont considérablement élargies et leurs membranes mal définies. Les saccules aplatis et les microvésicules sont moins nombreux à cet âge, alors que les grains de sécrétion remplissent la région supranucléaire.

B. — CELLULE ENDOCRINE. — L'appareil de Golgi suit la même évolution que celui des cellules exocrines; les dictyosomes existant déjà à 15 jours seront plus nombreux et dispersés autour du noyau à partir du 20^e jour.

4° *Rapports.* — Les grains de sécrétion et les mitochondries sont au voisinage de l'appareil de Golgi. L'ergastoplasme le respecte.

5° *Variations.* — L'alloxane B cytotoxique, qui donne de l'hyperglycémie en arrêtant la sécrétion des cellules B, fait disparaître, en même temps que les granulations B, la substance chromophile des dictyosomes au niveau des cellules B.

— Les sulfamides, qui augmentent la sécrétion d'insuline au niveau des cellules B (LOUBATIÈRES, 1955), font croître le nombre et la complexité des appareils de Golgi des cellules B. L'animal à jeun, chez qui la sécrétion d'insuline est diminuée, présente de rares appareils de Golgi au niveau des cellules B. Au niveau des cellules exocrines, la composante vacuolaire de l'appareil de Golgi est prédominante.

6° *Rôle.* — Les rapports qu'il a avec les grains de sécrétion et les mitochondries, qu'il semble polariser à son contact, ses variations — qui sont fonction de la sécrétion — et son apparition simultanée avec la sécrétion, nous font admettre, avec les anciens auteurs CAJAL, BOUIN, CHAMPY, et plus récemment PALADE et SJÖSTRAND, que l'appareil de Golgi fournit le matériau de la sécrétion des cellules pancréatiques. C'est un laboratoire de synthèse protéidique au niveau de ces cellules.

Si on ne trouve pas d'ARN morphologiquement décelable, de grains de Palade dans l'appareil de Golgi, c'est que seul, l'ARN soluble, de faible poids moléculaire et morphologiquement inaccessible, est responsable de la synthèse protéidique, comme l'ont précisé les biochimistes (HAROLD T. SHIGEMA et ERWIN CHARGAFF, 1958).

D'ailleurs, la présence d'une composante ribonucléique dans la constitution de l'appareil de Golgi est entrevue, d'une part, par les rapports intimes des grains de Palade et des petites vésicules, observés dans la genèse de l'appareil de Golgi, d'autre part, par les rapports étroits de l'ergastoplasme et de l'appareil de Golgi, observés dans les situations excito-sécrétoires (sulfamides).

7° *Rôle des différents constituants du dictyosome.* — Il semble que la substance chromophile, les saccules et les microvésicules jouent un rôle actif dans la sécrétion, le rôle d'élaboration de la sécrétion.

Certes, quelques grains de sécrétion apparaissent déjà dans les stades jeunes avec les seules microvésicules, mais ils sont rares, petits, et leur contraste faible; l'apparition des saccules conditionne réellement la sécrétion.

La composante vacuolaire, la substance chromophile semble être une forme résiduelle, que l'on retrouve hypertrophiée, après l'élaboration de la sécrétion, lorsque les grains sont déjà constitués; elle se développe également lorsque, dans la cellule, il y a arrêt de la sécrétion (culture d'organe en milieu standard; alloxane).

2° Grains de sécrétion.

1° *Genèse* (pl. X). A. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION EXOCRINES. — Vers le 17^e jour de la vie embryonnaire dans la région supranucléaire et au contact des formations microvésiculaires, on trouve de nombreuses mitochondries et, à côté, parfois, déjà quelques gros grains de sécrétion.

Vers le 20^e jour, ces grains augmentent nettement de nombre et l'on assiste, à cet âge, facilement à leur formation.

Celle-ci se fait au contact de l'appareil de Golgi. Grains de sécrétion et mitochondries ont la même taille, la même forme, la même membrane propre et leur nombre varie en raison inverse; de plus, on rencontre de nombreuses formes intermédiaires :

— ce sont des grains de sécrétion dont la substance n'est pas très contrastée et laisse apparaître des crêtes, d'autres fois, la substance des grains n'est pas homogène et l'on voit de petites vésicules à l'intérieur;

— par ailleurs, on rencontre des mitochondries remplies d'une substance déjà contrastée, mais non homogène, ou encore présentant à un pôle une substance homogène moyennement contrastée et à l'autre des crêtes;

— d'autres fois, une même membrane enveloppe une mitochondrie et un grain de sécrétion.

Toutes ces images suggèrent un support mitochondrial à la formation des grains de sécrétion. Ce processus doit être rapproché de celui décrit par BERKALOFF (1959) dans les tubes de Malpighi de Grillons.

Ces grains de sécrétion se groupent au pôle apical des cellules et leurs rapports avec l'ergastoplasme deviendront plus intimes; certains grains seront même contenus dans un sac ergastoplasmique.

B. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION ENDOCRINE B. — Ils naissent de même, au contact de l'appareil de Golgi, au voisinage des noyaux. Les grains de sécrétion et les mitochondries présentent également des figures intermédiaires.

Malgré l'existence, dès le 17^e jour, de petites granulations contrastées et peu nombreuses, on peut considérer l'apparition réelle des granulations B à partir du 20^e jour.

La membrane cytoplasmique externe se forme petit à petit autour de ces granulations, qu'elle isole dans les alvéoles.

C. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION ENDOCRINE A. — S'il existe, déjà à la périphérie des îlots, au terme de la vie embryonnaire, des cellules claires plus petites, fusiformes ou angulaires que l'on peut considérer comme des cellules A, elles ne contiennent pas de granulations spécifiques.

Notre étude ne nous permet de préciser leur date d'apparition qu'après la naissance. Nous les avons rencontrées au 6^e jour de la vie extra-utérine.

HARD, qui a fait un examen plus poussé, les trouve au 2^e jour de la naissance (1944), alors que NERENBERG (1954) situe leur apparition au 4^e jour.

2° *Morphologie et chimie.* A. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION Z. — Ils sont généralement arrondis, de diamètre moyen de 0,3 à 0,5 μ , et formés d'une substance de contraste moyen et d'une membrane propre, de 70 Å d'épaisseur environ.

Ils sont faits d'une substance basique, prenant les colorants acides en microscopie optique; cette propriété est expliquée par leur contenu des groupements -SH montrent qu'ils contiennent des lipoprotéines

B. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION ENDOCRINE B. — Généralement arrondis, de diamètre moyen de 150 à 200 μ , à contraste dense, ils sont entourés d'une membrane externe, qui délimite avec eux un petit intervalle clair, d'épaisseur moyenne de 100 Å. Ils sont colorés électivement en pourpre par la fuchsine paraldéhyde.

La réaction au noir soudan B après oxydation, et les réactions des groupements -SH montrent qu'ils contiennent des lipoprotéines et des groupements sulphydrylés.

C. — LES GRAINS DE SÉCRÉTION ENDOCRINE A. — Ils sont plus arrondis, plus contrastés, de diamètre moyen de 100 à 200 μ ; ils reposent directement sur la substance de fond cytoplasmique.

Ils se colorent électivement en rouge par l'azocarmin et semblent contenir du zinc chez le Rat.

3° *Variations.* A. — GRANULATIONS EXOCRINES. — L'animal affamé est bourré de granulations. L'animal affamé et nourri, une heure avant le sacrifice, montre des granulations vidées de leur substance.

L'animal surrénalectomisé montre des grains Z, formés d'une substance assez faiblement contrastée; il en est de même des cellules mises en culture sur milieu standard.

L'animal sulfamidé présente également de nombreuses granulations.

B. — GRANULATIONS ENDOCRINES B. — L'animal alloxanisé, sacrifié 24 heures après traitement, montre la disparition des cellules B.

L'animal sulfamidé présente peu de granulations B.

L'animal surrénalectomisé montre également peu de granulations B.

C. — GRANULATIONS ENDOCRINES A. — L'animal qui a reçu du cobalt présente peu de granulations A.

L'animal surrénalectomisé contient encore d'assez nombreuses granulations A.

L'animal alloxanisé montre une augmentation relative des granulations A.

4° Rapports. — Dans les cellules exocrines, les grains de sécrétion ont des rapports directs avec l'appareil de Golgi, au contact duquel ils se forment.

Les contacts avec l'ergastoplasme sont également étroits.

Enfin, les rapports avec la lumière excrétrice et ses végétations sont intimes; notre étude ne les a cependant pas précisés.

Dans les cellules endocrines, les grains de sécrétion ont des rapports avec les capillaires qui les attirent, notre étude n'a cependant pas précisé le mécanisme de ces rapports.

5° Rôle. — Les grains de sécrétion au niveau du pancréas sont évidemment un des supports morphologiques de la sécrétion.

Leur rôle de réserve semble évident; cependant, l'étude de leur genèse, de leurs rapports et de leurs variations nous pousse à les considérer comme des organites, soumis à des processus biologiques actifs, processus que nous n'avons d'ailleurs pas précisés.

3° La sécrétion des cellules pancréatiques.

L'étude morphologique que nous avons décrite nous amène à considérer 3 temps dans la sécrétion des cellules pancréatiques, qui aboutit physiologiquement au liquide sécrétoire émis dans une cavité.

1° L'élaboration de la sécrétion semble se faire dans l'appareil de Golgi et, plus particulièrement, au niveau des saccules et des microvésicules golgiennes.

2° Le stockage ou la réserve se manifeste sous la forme du grain de sécrétion; ce temps de la sécrétion ne doit pas être regardé comme purement passif.

3° L'excrétion aboutit à la fonction sécrétrice des physiologistes et met en jeu des mécanismes neurohumoraux, que notre étude n'a pas précisés. Elle explique les rapports étroits des grains de sécrétion avec les vaisseaux ou les lumières excrétrices.

Ce troisième temps semble se produire après la naissance; en effet,

les cellules acineuses bourrées de granulations Z chez l'embryon à terme sont partiellement vidées de leurs grains Z, chez le jeune Rat âgé de 24 heures.

Pour la sécrétion endocrine, bien que l'embryon ait la possibilité, selon NEEDHAM (1931) et WINDLE (1940), d'élaborer une sécrétion sous certaines conditions, à partir du 20^e jour, il semble que ce soit après la naissance qu'ait lieu la fonction sécrétrice. En effet, il n'y a pas de vidange, mais une accumulation des grains dans la cellule B, avant la naissance. Il existe, au contraire, 24 heures après la naissance, un degré de vidange des grains B.

Remarque. — Nous voyons que le grain de sécrétion ne doit pas être considéré comme la projection morphologique exclusive de la sécrétion. Il en forme peut-être un relais indispensable dans les cellules pancréatiques, et notre étude n'a pas pu mettre en évidence de manifestation sécrétrice sans grains de sécrétion. Sa présence traduit morphologiquement une stase de la sécrétion, mais ne peut pas préjuger de l'état fonctionnel de la cellule.

II. — ORIGINE DES CELLULES ENDOCRINES

1^o Théorie du balancement.

LAGUESSE (1895-1896) admettait que les cellules insulaires avaient une double origine, qu'elles se différenciaient à partir des cellules des canaux excréteurs et à partir des cellules acineuses. Il pensait que, dans ce cas, il y avait un cycle cellulaire de transformation qui rendait les cellules tour à tour exocrines et endocrines : c'est la théorie du balancement.

La première origine a été généralement admise et il est aisé, chez l'embryon — par exemple —, de trouver, au niveau des cellules épithéliales d'un canal ou d'un tubule, une cellule plus grande, sans polarité et à cytoplasme basophile. Cette cellule se rencontre parfois seule; le plus souvent, elle déborde le conduit et est accompagnée d'un petit groupe de cellules semblables.

La théorie du balancement, par contre, a été très discutée.

Une mise au point des différentes théories a été faite par BARGMAN (1939).

WOERNER (1938), à partir de méthodes expérimentales, démontre la transformation des cellules acineuses en cellules endocrines B.

SERGEYEVA (1940) admet la transformation dans les deux sens.

Pour HARD (1944), par contre, les preuves de transformation de cellules exocrines en endocrines manquent chez le jeune Rat de 5 jours dans une période où la croissance insulaire est rapide.

2° Preuves de transformation.

L'étude que nous avons entreprise nous a offert différentes situations d'insulogénèse : l'étude chez l'embryon, chez le jeune Rat de 7 jours, les cultures d'organes en milieu surrénalien, l'expérimentation au cobalt.

Il nous a été ainsi possible d'observer des images de transformation de cellules acineuses en cellules endocrines B.

Cette transformation se manifeste par l'existence, dans certains acini, de cellules particulières, contenant côte à côte les deux types de granulations; grains Z de diamètre moyen de $0,5 \mu$ et moyennement contrastés; grains endocrines de diamètre de 150 à 250 $m\mu$ et à contraste dense (pl. XVI, fig. 2 et 3).

Plus accessoirement, l'ergastoplasme de ces cellules apparaît vésiculaire, les limites cellulaires sont difficiles à percevoir, ce qui donne un aspect syncytial, comme l'avait signalé LAGUESSE.

Le noyau des cellules devient central et la cellule perd sa polarité.

Si nous avons pu observer la transformation de cellules acineuses en cellules endocrines, il ne nous a pas été possible, dans nos conditions d'expérience, de vérifier la transformation de cellules endocrines en cellules exocrines. Cette transformation acino-insulaire est d'ailleurs confirmée par le récent travail de GUSEK et KRACHT (1959).

C. — HISTOCHIMIE ET ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

1° Lipides et protéines sulfhydrylées.

Nous avons mis en évidence des lipides « structurés » par la réaction au noir soudan B, après oxydation, ainsi que des groupements —SH qui sont révélés au sein du cytoplasme et également au niveau des granulations des cellules B, par la réaction de Chèvremont et la réaction au néotétrazolium de Gomori.

Ces résultats se rapprochent de la mise en évidence du complexe lipoprotidique à groupements —SH, détecté au niveau des nucléoles de certaines cellules (ZAGURY, 1957) et retrouvé au niveau des chromosomes (IDELMAN, 1957).

Bien que notre étude histochimique ne soit pas suffisamment fine et précise pour affirmer l'existence d'un tel complexe, il semble que ces 2 corps chimiques, localisés au niveau de la cellule B dans les mêmes structures, apparaissant dans l'organogénèse à partir du 19^e jour et disparaissant également après l'action de fixateurs organiques (alcool), soient liés dans un complexe lipoprotidique au niveau des cellules B.

2° Zinc et insuline.

L'étude du zinc, mise en évidence dans les cellules A du pancréas de Rat, à l'état normal, ne permet pas de préjuger de la présence d'une sécrétion d'insuline.

En effet, chez l'animal alloxanisé où la sécrétion d'insuline est diminuée, il y a augmentation de granulations A contenant du zinc.

Au contraire, l'animal affamé qui a une sécrétion d'insuline diminuée voit décroître également le contenu en zinc de ses cellules A. Il semble que, dans ce deuxième cas, il y ait en même temps diminution de l'élaboration d'insuline dans les cellules B et diminution du zinc dans les cellules A.

C'est pourquoi, bien que chez l'animal normal la formation du zinc soit probablement parallèle à la sécrétion d'insuline, la présence de zinc, histochimiquement décelable, ne reflétera pas la sécrétion d'insuline.

3° Activités enzymatiques.

1° Activités phosphatasiques. — Si l'étude de ces activités enzymatiques nous a permis de définir différentes catégories cellulaires, en intégrant ces activités à un système de dégradation enzymatique de l'ARN, leur variation, dans nos conditions d'expérience en fonction des différentes situations étudiées, exigera une grande prudence : les résultats ne pourront pas être interprétés suivant une loi générale. En effet, la présence d'activité, décelée histochimiquement dans des bains d'incubation, ne préjuge pas de l'activité enzymatique fonctionnelle dans la cellule.

Aussi, les résultats obtenus dans chaque situation doivent-ils être expliqués en particulier; ainsi l'on comprendra qu'une augmentation des phosphatases acides ait lieu dans les situations d'insulogénèse, chez l'animal traité au cobalt, chez l'animal en gestation, chez le jeune Rat ou, encore, en culture de pancréas en parabiose surrénalienne.

Nous expliquerons également l'augmentation de l'activité des phosphatases acides chez les animaux alloxanisés. Leurs cellules B, qui contiennent de l'ARN morphologiquement décelable, semblent ne pas utiliser *in vivo* cette activité, laquelle sera révélée *in vitro* par le bain d'incubation, utilisant le β -glycérophosphate de sodium comme substrat.

2° Activités ribonucléasiques. Leurs variations, en fonction des différentes situations, exigent également une interprétation prudente.

Cet enzyme, qui, avec les phosphodiesterases et les phosphatases non spécifiques, forme la chaîne enzymatique de dégradation de

l'ARN, semble jouer un rôle déterminant dans la protéinogenèse spécifique de la cellule endocrine.

En effet, la dégradation de l'ARN morphologiquement décelable, permet la protéinogenèse spécifique, à partir de petites chaînes d'ARN seule actives, comme les biochimistes l'admettent généralement.

3° *Activités estérasiques ou lipasiques.* — La détection d'une activité estérasique, assez diffuse au niveau des cellules A chez le Rat, permet de rendre compte de l'absence de lipoprotéines dans le cytoplasme de ces cellules.

Notre étude s'est limitée à l'obtention de ce résultat qualitatif.

D. — ORGANOGÉNÈSE

L'étude morphologique, entreprise sur les pancréas d'embryons de Rats d'âge varié, de 15 à 22 jours, nous amène à considérer deux périodes distinctes :

— *La première*, située du 15 au 20^e jour, où l'on voit les cellules sécrétrices se différencier et acquérir même un potentiel spécifique, puisqu'elles sont capables d'élaborer des grains de sécrétion caractéristiques; ces derniers restent cependant peu nombreux. Ce stade se caractérise morphologiquement :

a) dans le cytoplasme des cellules sécrétrices, par l'absence de système membraneux généralisé; il existe à ce stade, dans le cytoplasme, de nombreux grains et des petites vésicules, comme l'a également précisé MUNGER (1958), chez la Souris;

b) au niveau des cellules B, par l'absence de lipides structurés;

c) au niveau des îlots, par l'absence d'activité enzymatique, phosphatasique et ribonucléasique, dans nos conditions d'expérience.

— *La deuxième*, qui se traduit par l'abondance des processus morphologiques de la sécrétion. Il y a élaboration avec de nombreux appareils de Golgi, et grains de sécrétion caractéristiques très nombreux. Ce stade voit apparaître, dans le cytoplasme :

— un système membraneux généralisé, au niveau des cellules exocrines et des cellules B; en même temps, les granulations diffuses disparaissent ou s'ordonnent le long des lamelles ergastoplasmiques;

— au niveau des cellules B, l'apparition de lipides structurés;

— au niveau des îlots, l'apparition des systèmes enzymatiques, phosphatasiques et ribonucléasiques.

Cette évolution fonctionnelle aboutira au stade adulte.

Nous signalerons la coïncidence temporelle qui existe avec l'apparition de la fonction surrénalienne embryonnaire et de la fonction glycogénique du foie, qui débute réellement, comme l'a démontré JACQUOT, le 20^e jour de la vie embryonnaire (1958).

E. — PHYSIOLOGIE ET EXPÉRIMENTATION

1° *Alloxane.*

L'action B cytotoxique de l'alloxane n'est pas encore expliquée. Certains auteurs ont proposé l'hypothèse d'un complexe chimiquement possible de l'alloxane avec le zinc, mais aucune démonstration n'a pu être apportée; de plus, il est difficile d'admettre chez le Rat l'existence d'un tel complexe, alors que les cellules A qui contiennent le zinc restent intactes, pour expliquer l'action de l'alloxane.

L'étude morphologique, concernant l'expérimentation à l'alloxane, nous a permis d'observer :

1° L'absence de granulation spécifique et également, en accord avec le résultat obtenu par BATTIS (1959) en microscopie optique, l'absence d'appareil de Golgi dans les cellules B. Nous traduirons ce résultat, en langage physiologique, par l'absence de synthèse protidique spécifique, c'est-à-dire absence d'insulino-formation.

2° L'existence, au niveau des cellules B, de grains denses, de diamètre moyen de 140 Å qui, morphologiquement, représentent les grains de Palade.

Ces granulations traduisent la présence d'ARN à poids moléculaire élevé.

Ces deux constatations morphologiques nous ont poussé à rechercher le mécanisme d'action B cytotoxique au niveau des processus de synthèse protidique spécifique (insuline), à partir d'un moule ribonucléique.

Deux arguments chimiques appuient cette hypothèse :

1° Le fait que l'alloxane est l'homologue chimique de l'uracile, base purique de l'ARN.

2° Les propriétés oxydo-réductrices de l'alloxane, qui peuvent expliquer son intervention dans le métabolisme de l'ARN.

2° *Sulfamides.*

Le mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiants est très discuté.

L'étude morphologique, concernant l'expérimentation avec les sulfamides, nous permet d'appuyer l'hypothèse de LOUBATIÈRES, qui soutient que l'insuline est sécrétée abondamment par les cellules B, activées par la présence de sulfamides. En effet, l'existence de très abondants appareils de Golgi qui élaborent la sécrétion spécifique est un argument morphologique en faveur de la stimulation sécrétrice des cellules B du pancréas.

3° *Surrénales.*

1° Inhibition. — Le récepteur pancréatique réagit à l'ablation chirurgicale des glandes surrénales, par une diminution des aspects morphologiques de la sécrétion, et par une augmentation du nombre des mitochondries. De plus, les appareils de Golgi se présentent, simples et atrophiés : ils sont formés d'éléments vacuolaires ; les saccules sont peu nombreux et assez faiblement contrastés ; les petites vésicules sont rares.

Cette image morphologique se retrouve au niveau des cultures de pancréas isolé en milieu standard.

De même, l'animal à jeun présente également une diminution des processus morphologiques de la sécrétion.

2° Activation surrénalienne. — Il semble que la polynésie et la macronésie des îlots de Langerhans, obtenues après administration de cobalt (VAN CAMPENHOUT, 1952) ou de cortisone (VALK et LAZARUS, 1959), ou encore après certaines agressions non spécifiques (THÉRET, 1953) et, d'une façon générale, les situations d'insulogénèse, telles que la gestation ou le stade du nouveau-né, puissent être rattachées à un stress des glandes surrénales. Cette activation langerhansienne par les surrénales est démontrée en culture d'organe par la nécessité du facteur exogène surrénalien, pour établir les critères morphologiques de la fonction endocrine. Ces expériences de culture *in vitro* confirment les travaux de HOUSSAY (1951) et de HOUSSAY, RODRIGUEZ, CARDEZZA (1954), qui considèrent les hormones stéroïdes comme insulogénétiques.

CONCLUSION

I. L'étude morphologique des cellules sécrétrices de pancréas de Rat a été faite au moyen du microscope électronique. Nous avons pu ainsi décrire l'ultrastructure des organites de ces cellules dans différents états physiologiques, histogénétiques, expérimentaux, et en culture d'organes. Les données du microscope électronique ont été rattachées à un ensemble morphologique général grâce à un complément d'étude histologique au microscope optique. Cette dernière étude a porté sur :

— la cytologie, avec ses méthodes de coloration générale des cellules (Mann Dominici et trichrome) et de coloration des granulations spécifiques (F. P. A. et Azan);

— l'histochimie, en utilisant les réactions spécifiques de détection de l'ARN, des lipides, des groupements —SH et du zinc;

les activités enzymatiques, en détectant sur coupes les activités phosphatasiques non spécifiques, ribonucléasiques, phosphodiéstérasiques et estérasiques.

II. — Les résultats obtenus apportent une contribution dans les domaines suivants :

TECHNIQUE

1° La détection histochimique de certains lipides structurés, par une coloration au noir soudan B, après un traitement d'oxydation préalable, nous a permis d'en préciser l'existence au niveau du cytoplasme et des grains des cellules B du pancréas.

2° Nous avons pratiqué la détection histochimique des activités ribonucléasiques et phosphodiéstérasiques qui forment, avec les phosphatasas non spécifiques, la chaîne enzymatique de dégradation des acides nucléiques.

Ces activités enzymatiques ont été ainsi décelées au niveau des ilots et de la bordure apicale des cellules acineuses chez l'embryon et le jeune Rat.

3° L'isolement des îlots, en utilisant la réaction de Maske à la dithizone *in vivo*, suivie d'une congélation immédiate du pancréas, nous a permis d'énucléer les îlots et d'obtenir, dans une certaine mesure, un culot insulaire.

CYTOLOGIQUE

L'étude morphologique du cytoplasme des cellules sécrétrices et de ses composantes membraneuse et granulaire a été faite.

Nous avons pu rattacher ces données morphologiques aux données histochimiques et enzymatiques. Une définition des cellules sécrétrices, à partir de leur cytoplasme, a pu être ainsi faite et l'on comprendra mieux, de cette façon, la différence évolutive des cellules sécrétrices, à partir d'une même ébauche de cellules entoblastiques et leur éventuelle transformation.

CYTOPHYSIOLOGIQUE

A. — LA SÉCRÉTION PANCRÉATIQUE. — 1° L'étude de l'appareil de Golgi a permis de confirmer son rôle dans la sécrétion, comme l'avaient déjà envisagé les anciens auteurs. Cette étude a précisé le rôle de chacune des composantes de l'appareil dans l'élaboration de la sécrétion, au niveau des cellules sécrétrices du pancréas.

2° L'étude des grains de sécrétion a permis de suggérer leur origine à partir des mitochondries et leur rôle de relais morphologique nécessaire dans la sécrétion pancréatique.

B. — L'INSULINOGENÈSE. — Son étude nous a permis de confirmer, comme LAGUESSE le soutenait, la possibilité de transformation des cellules exocrines en cellules endocrines.

ENDOCRINIENS

In vitro, en culture d'organe, notre étude nous a permis de préciser la survie des cellules sécrétrices de pancréas d'embryons âgés de 16 à 21 jours, cultivés en milieu standard. Nous avons pu également définir un facteur exogène d'origine surrénalienne, nécessaire pour faire apparaître ou maintenir les critères morphologiques, supportant la fonction endocrine (grains de sécrétion spécifique et appareil de Golgi). Ces critères morphologiques traduisent arbitrairement la fonction, mais il semble qu'au niveau du pancréas ils soient suffisamment éprouvés pour qu'on puisse les admettre. La fonction physiologique, l'activité endocrine, sera démontrée avec certitude au moyen d'un récepteur physiologique.

PHARMACODYNAMIQUES

a) Le mécanisme d'action B cytotoxique de l'alloxane, agissant sur l'acide ribonucléique et par là sur la synthèse protidique de l'insuline, est suggéré par les données morphologiques : l'absence de l'appareil de Golgi et la présence de cisternæ ergastoplasmiques, avec grains de Palade, au niveau des cellules B.

b) Un argument en faveur de l'hypothèse de LOUBATIÈRES, concernant le mécanisme de libération de l'insuline par les cellules B, après administration de sulfamides hypoglycémians, a été apporté par l'étude morphologique; la présence de très abondants appareils de Golgi, en même temps que l'absence de stase de grains de sécrétion dans la cellule B, déce le morphologiquement l'hyperactivité sécrétoire de ces cellules.

III. — Les différents résultats que nous avons obtenus ouvrent de nouvelles *perspectives* de travail :

1° En culture d'organe : la possibilité de culture du pancréas fonctionnel permet l'étude expérimentale *in vitro*. Il faudra certes préalablement codifier un récepteur sensible cytologique (foie ou mieux muscle du diaphragme qui, en présence d'insuline, se remplit de glycogène).

— L'existence d'un facteur surrénalien mis en évidence *in vitro* par la culture d'organe impose l'identification d'une hormone surrénalienne insulogénétique.

2° L'isolement des îlots pancréatiques, après injection de dithizone chez l'animal, nous permet d'envisager une étude biochimique de culot insulaire, globale ou après fractionnement.

3° Le rôle de l'ARN et de la ribonucléase, mis en évidence dans l'insulinogénèse, nous impose une étude biochimique et histo chimique des activateurs et inhibiteurs de la ribonucléase.

4° Après l'étude morphologique du pancréas de Rat dans différents états physiologiques, expérimentaux, histogénétiques et en culture d'organes, une étude de microscopie électronique, d'histochimie et d'activités enzymatiques mérite d'être entreprise au niveau des cellules sécrétrices des tumeurs du pancréas de l'Homme et de la Souris.

Ce travail sera également abordé expérimentalement, puisque la culture des cellules tumorales, sur un support organique en milieu standard, est aisée.

BIBLIOGRAPHIE

1952. ACKERMAN (C. A.). — *Science*, **115**, p. 629.
1955. ALFREY (V.), DALY (M. N.) et MIRSKY (A. E.). — *J. gen. Physiol.*, **37**, p. 157.
1953. ALLARA (E.). — *Boll. Soc. ital. biol. sper.*, **29**, p. 1843-1845.
1937. ARCHETTI (I.). — *Zschr. Zellforsch.*, **27**, p. 500-527.
1920. ARON (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, Paris, **83**, p. 631-634. — 1931. *Bull. Biol. Fr. et Belg.*, **65**, p. 438-521.
1924. ARON (M.) et ALFONSI (N.). — *C. R. Soc. Biol.*, Paris, **41**, p. 609-611.
1954. ASHMORE (J.) et HASTINGS (A. B.). — *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **40**, p. 673.
1956. ASHMORE (J.), CAHILL et HASTINGS (A. B.). — *Metabolism*, vol. **5**, n° 6, 2^e partie, p. 774.
1944. BAKER (J. R.). — *Quart. J. micr. Sci.*, **85**, p. 1. — *Quart. J. micr. Sci.*, **87**, p. 441.
1939. BARGMANN (W.). *Handbuch, mikroskopischen Anatomie des Menschen. Zweiter Teil*, p. 197-288.
1954. BARNETT (R. J.) et SELIGMAN (A.). — *J. Nat. Cancer Inst.*, **14**, p. 769.
1951. BARRINGTON (E. J. W.). — *Quart. J. micr. Sci.*, **92**, p. 205-220.
1959. BATTS. — *Annals of the New-York Academy of Sciences*, vol. **82**, art. 2, p. 302-318.
1911. BENSLEY (R. R.). — *Am. J. Anat.*, vol. **12**, p. 297-388.
1958. BEREMBAUM. — *Quart. J. micr. Sci.*, **99**, p. 231-242.
1959. BERKALOFF. — *C. R. Acad. Sci.*, **249**, n° 19, p. 1934-1936.
1954. BLACK (L.) et COMOLLI (R.). — *Arch. Anat. microsc. et Morph. exp.*, **43**, n° 3, p. 276-281.
1940. BRACHET (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, Paris, **133**, p. 88. — *The nucleic Acid* (E. Chargaff et J. N. Davidson edition), New-York, Academic Press, Inc. **2**, p. 475.
1930. BRITTON (S. W.). — *Am. J. Physiol.*, **95**, p. 178-185.
1958. BROUSSE (P.), IDELMAN (S.) et ZAGURY (D.). — *C. R. Acad. Sci.*, **246** (21), p. 3106-3108.
1941. CASPERSON (T.), LANDSTRÖM (H.) et AQUILONIUS (L.). — *Chromosoma*, **2**, p. 111.
1954. CHEN (J. M.). — *Expl. cell. Res.*, **7**, p. 518-529.
1943. CHÈVREMONT (M.) et FRÉDÉRIC (J.). — *Arch. biol.*, **54**, p. 589.
1949. COHEN. — *Stain technol.*, **24**, p. 177.
1953. DALTON (A. J.) et FÉLIX (M. D.). — *Am. J. Anat.*, **92**, p. 277.
1952. DAVIS (J. C.). — *J. Path. a. Bact.*, **64**, p. 575.
1927. DEBEYRE (A.). — *Arch. Anat.*, **7**, p. 155-161.
1948. DEMPSEY. — *Rec. Progr. in Hormone Res.*, **3**, p. 127-157.
1960. DIETERLIN-LIÈVRE. — *C. R. Acad. Sci.*, **250**, p. 1349-1351.
1893. DOGIEL (A. S.). — *Arch. Anat.*, **117**, p. 122.
1957. DUBOIS (A. M.). — *Zschr. Zellforsch.*, **47**, p. 226.
1943. DUNN, MAC LETCHIE et SCHEMAN. — *J. Path. a. bact.*, **55**, p. 295.
1957. FAVARD (P.) et CARASSO (N.). — *C. R. Acad. Sci.*, **245**, p. 2547.
1957. FERREIRA. — *J. Ultrastr. Res.*, **1**, p. 14-25.
1950. FOERNER et STOCKENIUS. — *Zschr. Zellforsch.*, **35**, p. 147-175.
1951. FOLCH (J.), AXOLI (T.), LEES (M.), MEATH (J. A.) et LE BARON (F. N.). — *J. Biol. Chem.*, **191**, p. 833-841.
1958. FRIEDRICKSON (B.), LAURENT (T. C.) et LUNING (B.). — *Stain technol.*, **33**, p. 155-158.
1957. FRYE (B. E.). — *J. Morphol.*, **101**, p. 325-347.

1957. GABE (M.) et MARTOJA. — *Bull. de Microsc. appliquée* (2), **7**, n° 3, p. 60-63.
1900. GARNIER (C.). — *J. Anat. et Physiol.*, Paris, **36**, p. 22.
1957. GEPTS (W.). — Contribution à l'étude morphologique des îlots de Langerhans au cours du diabète. Ed. Acta Med. Belg., Bruxelles.
- 1939 a. GOMORI. — *Proc. Soc. exp. Biol.*, N. Y., **42**, p. 23. — 1939 b. *Anatomical Record*, vol. **74**, p. 439-459. — 1941 a. *Am. J. Path.*, vol. **17**, p. 395-406. — 1941 b. — *J. cell. comp. Physiol.*, **17**, p. 71-83. — 1941 c. *Arch. path.*, **32**, p. 189. — 1945. *Proc. Soc. exp. biol.*, N. Y., **58**, p. 362. — 1950. *Am. J. Clin. Path.*, **20**, p. 665. — 1952. *Intern. Rev. Cytol.*, **1**, p. 323. — 1956. *Quart. J. micr. Sci.*, **97**, p. 1-9.
1957. GOSSNER (C.). — *Histochemie*. — 1958. *Histochemie*, Bd **1**, S. 1-28, p. 49-95.
1956. GRASSE (P.-P.), CARASSO (N.) et FAVARD (P.). — *Ann. Sci. nat. Zool.*, **18**, 2^e série, p. 339-380.
1952. GROGG (E.) et PEARSE (A. C. E.). — *J. Path. a. Bact.*, **64**, p. 627.
1959. GUSEK (W.) et KRACHT (J.). — *Z. pathol.*, **70**, p. 98-106.
1944. HARD (W. L.). — *Am. Journ. of Anat.*, vol. **75**, n° 3.
1951. HOUSSAY. — *Brit. Med. Journ.*, p. 505.
1954. HOUSSAY, RODRIGUEZ et CARDEZZA. — *Endocrinology*, **54**, p. 550.
1957. IDELMAN (S.). — *C. R. Acad. Sci.*, **244**, p. 1827-1828. — 1958. *C. R. Acad. Sci.*, **246**, p. 1098-1100.
- 1958 a. JACQUOT. — *J. de Physiol.*, **51**, p. 655-692. — 1958 b. — *J. de Physiol.*, **51**, p. 693-721.
1950. KADOTA. — *J. Lab. and Clin. Med.*, **35**, p. 568-591.
1954. KLEBANOFF et GREENBAUM. — *Endocrinology*, **11**, p. 314-322.
1954. LACY (D.). — *J. Royal Microsc. Soc.*, série 3, **74**, p. 226-236. — 1957. *Anat. Record*, **128**, p. 255-268.
1958. LACY et CARDEZZA. — *Diabetes*, vol. **7**, n° 5, p. 368-374.
- 1904-1905. LAGUESSE. — *Rev. gén. d'Histol.*, **1**. — 1906-1907. *Rev. gén. d'Histol.*, **2**, p. 1 à 284. — 1895. *J. Anat. et Physiol.*, Paris, **30**, p. 1475. — 1896. *J. Anat. et Physiol.*, Paris, **32**, p. 171-209.
1955. LANGDEN (R.) et WEAKLEY (D. R.). — *J. Biol. Chem.*, **214**, p. 167-174.
1869. LANGERHANS. — *Beitrage zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse*, 80, Berlin.
1954. LILLIE. — *Histopathologie technic and Practical Histochemistry*, the Blakiston company Inc., p. 89-90.
1953. LILLIE (R. D.) et BURTNER (H. J.). — *J. Histochem. Cytochem.*, **1**, p. 8.
1935. LISON (L.) et DAGNELIE (J.). — *Bull. d'Histol. appliquée*, **12**, p. 85.
- 1955 a. LOUBATIÈRES (A.). — *Presse méd.*, **82**, p. 1701. — 1955 b. *Thérapie*, **10**, p. 907.
1955. MC ISAAC (R.). — *Endocrinology*, vol. **57**, n° 5, p. 571.
1946. MAC MANUS (J. F. A.). — *J. Path. a. Bact.*, **58**, p. 93.
1894. MANN. — *Ztschr. f. Wiss. Mikr.*, **11**, p. 489.
1957. MASKE. — *Diabetes*, vol. **6**, n° 4, p. 335-341.
1953. MORELLE (V.). — *C. R. Soc. Biol.*, **147**, p. 1649. — 1958.
- 1958 a. MUNGER. — *Am. J. of Anatomy*, **103**, p. 1-35. — 1958 b. — *Am. J. of Anatomy*, **103**, p. 275-312.
1924. NAKAMURA. — *Virchows Arch.*, **253**, p. 286-349.
1931. NEEDHAM (J.). — *Chemical Embryology*, vol. II et III. Cambridge Univ. Press, London.
1954. NEREMBERG (S. T.). — *Arch. Path.*, **58**, p. 236-240.
1927. NEUBERT (K.). — *Arch. f. Entwick. mech. d. Org.*, Bd **111**, S. 29-118.
1949. NEWMAN (S. B.), BORYSKO (E.) et SWERDLOW (M.). — *J. Research Natl. Bur. Standards*, **43**, 183.
1947. NOBACK (C. R.) et MONTAGNA (W.). — *Am. J. Anat.*, **81**, p. 343-362.
1959. NOVIKOFF (A. B.). — *J. Bioph. Bioch. Cytol.*, **6**, n° 1, p. 136.
1943. OKAMOTO. — *Trans. Soc. Path. Jap.*, **33**, p. 247-252. — 1949. *Acta Scholae Med. Univ., Kioto*, **27**, p. 43-65.

1930. O'LEARY (J. L.). — *Anat. Record*, **45**, p. 27-58.
- 1952 a. PALADE (C. E.). — *J. expl. med.*, **95**, p. 285-298. — 1952 b. *Anat. Record*, **114**, p. 427. — 1953. *J. appl. Physics*, **24**, p. 1419. — 1955. *J. Bioph. Bioch. Cytol.*, **1**, p. 59. — 1956. *J. Bioph. Bioch. cyto.*, **2**, p. 671-690. — 1958. Subcellar particles, Teru Hayaski dpt, p. 68-80.
1956. PALADE (C. E.) et SIEKIEWITZ. — *J. Bioph. Bioch. Cytol.*, vol. **2**, n° 4, part 1.
1899. PAPPENHEIM (A.). — *Virchows Arch.*, **157**, p. 19.
- 1954 a. PEARSE. — *Histochemistry theoretical and applied*, 1^{re} éd., p. 179. — 1954 b. *Histochemistry theoretical and applied*, 1^{re} éd., p. 402. — 1954 c. *Histochemistry theoretical and applied*, 1^{re} éd., p. 444. — 1954 d. *Histochemistry theoretical and applied*, 1^{re} éd., p. 446. — 1954 e. *Histochemistry theoretical and applied*, 1^{re} éd., p. 447. — 1960. *Histochemistry theoretical and applied*, 2^e éd., p. 290-330.
1910. PERRONCITO (A.). — *Arch. ital. biol.*, **54**, p. 307-345.
1953. PORTER (K. R.) et BLUM (J.). — *J. Anat. Record*, **117**, p. 685.
1955. PRIVAT DE GARILHE et LAKOWSKI. — *Biochem. et Bioph. Acta*, **18**, p. 370.
1958. RYTTER, ANTONETT et KELLENBERGER. — *J. Ultrastr. Res.*, **2**, p. 200-214.
1920. SAGUCHI. — *Am. J. Anat. Phila.*, **28**, p. 1-44.
1949. SELIGMAN (A. M.) et MANHEIMER (L. H.). — *J. Nat. Cancer Inst.*, **9**, p. 427.
1940. SERGEYEVA (M. A.). — *J. Anat. Record*, vol. **77**, p. 297-317.
1958. SERRA. — *Sciences*, n° 3314, p. 28 et 29.
1958. SHIGEMA HAROLD (T.) et CHARGAFF ERWIN. — *B. B. A.*, **30**, p. 434.
1926. SIWE (S. A.). — *Morph. Jahrb.*, Bd. **57**, p. 584-607.
1953. SJÖSTRAND (F. S.). — *Nature*, **171**, p. 31.
- 1954 a. SJÖSTRAND (F. S.) et HANZON (V.). — *Exper. cell Research.*, **7**, p. 393-414. — 1954 b. *Exper. cell Res.*, **7**, p. 415-429.
1939. TAKAMATSU (M.). — *M. Trans. Soc. path. Japan*, **29**, p. 429.
1953. THÉRET (C.). — *Biol. Med.*, **42**, p. 609.
1925. VAN CAMPENHOUT (E.). — *Arch. de Biol.*, **35**, p. 45-88. — 1958. *Bulletin de l'Acad. Royale de Méd. de Belgique*, VI^e série, **23**, n° 3-4, p. 214-235.
1951. VAN CAMPENHOUT (E.) et CORNELIS (G.). — *Bull. Acad. Roy. Méd. de Belgique*, **16**, p. 382.
1949. VERNE (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, **143**, p. 668.
1956. VERNE (J.) et THÉRET (C.). — *Biol. méd.*, **45**, p. 345-381.
1957. VOIGT. — *Acta Path. Scand.*, **41**, p. .
1959. VOLK (B. W.) et LAZARUS (S. S.). — *Annals New-York Academy of Sciences*, vol. 82, art. 2, p. 319-337.
1952. VUYLSTEIKE (J. A.), CORNÉLIUS (C.) et DE DUVE (C.). — *Arch. intern. physiol.*, **60**, p. 128.
1953. WEISS. — *J. Exper. Med.*, **98**, p. 607-618. — 1955. *J. exp. Med.*, **102**, p. 775-782.
1940. WINDLE (W. F.). — *Physiology of the embryo*. Saunders, Philadelphie, p. 249.
1938. WOERNER (C. A.). — *J. Anat. Record*, vol. **71**, p. 33-57.
1952. WOLFF (E.) et HAFEN (K.). — *J. Exp. Zool.*, vol. **119**, n° 3, p. 381-404.
1952. WOLFF, MASKE, STAMPFL et BAUMGARTEN. — *Arch. Exp. Path. u. Pharmacol.*, **216**, p. 440-446.
- 1957 a. ZAGURY (D.). — *Thèse de Biologie* (3^e cycle), juil., p. 1-40. — 1957 b. *C. R. Acad. Sci.*, **244**, p. 1825. — 1959. *C. R. Acad. Sci.*, **249**, p. 2834-2835.
1960. ZAGURY (D.), POCHON (F.) et PRIVAT DE GARILHE (M.). — *C. R. Acad. Sci.*, **250**, p. 196-197.

LÉGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

CELLULE EXOCRINE DE PANCRÉAS DE RAT ADULTE A JEUN DE 12 HEURES

FIG. 1. — Région supranucléaire, lumière acineuse avec digitation; grains de zymogène et grosses mitochondries; ergastoplasme vésiculaire et appareil de Golgi. (Gr. final : 52.500.)

FIG. 2. — Région basale; noyau; ergastoplasme avec grains de Palade; mitochondries avec crêtes caractéristiques. (Gr. final : 52 500.)

PLANCHE II

CELLULE ENDOCRINE A

FIG. 1. — Pôle vasculaire : grains de sécrétion spécifiques (α) mêlés à des mitochondries dans un cytoplasme clair. A noter le vaisseau et la cellule B à cytoplasme dense. (Gr. final : 25 000.)

FIG. 2. — Cellule A en forme naviculaire, cytoplasme clair; grains de sécrétion spécifiques (α); gros noyau avec nucléole. (Gr. final : 21 000.)

PLANCHE III

CELLULE B DE PANCRÉAS DE RAT ADULTE A JEUN DE 12 HEURES

FIG. 1. — Cytoplasme dense, membraneux; grains de sécrétion spécifiques (β). (Gr. final : 21 000.)

FIG. 2. — Grains de sécrétion spécifiques (β). On notera la membrane externe qui les entoure. (Gr. final : 52 500.)

PLANCHE IV

CYTOPLASME DES CELLULES SÉCRÉTOIRES DE PANCRÉAS DE RAT ADULTE A JEUN DE 12 HEURES

FIG. 1. — Cellule exocrine avec l'ergastoplasme formé de doubles lamelles flanquées de grains de Palade régulièrement disposés sur leur bord externe. (Gr. final : 21 750.)

FIG. 2. — Cellule B avec cytoplasme dense, membraneux. L'on notera que les grains de sécrétion spécifiques (β) sont logés dans les alvéoles formées par les membranes cytoplasmiques. (Gr. final : 16 500.)

FIG. 3. — Cellule A avec cytoplasme clair où quelques débris de substance amorphe supportent les organites cellulaires. (Gr. final : 21 000.)

PLANCHE V

CELLULES TUBULAIRES ET CELLULES CENTRO-ACINEUSES

- FIG. 1. — Cellules centro-acineuses de pancréas de Rat adulte: souvent couchées sur les cellules exocrines, dans la lumière sécrétoire, elles ont un cytoplasme granulaire dans lequel baignent quelques mitochondries. (Gr. final : 14 750.)
- FIG. 2. — Cellules centro-acineuses d'un pancréas d'embryon à terme. Très nombreuses à cet âge, elles apparaissent avec un cytoplasme granulaire dans lequel baignent quelques mitochondries et de petits appareils de Golgi. (Gr. final : 13 250.)
- FIG. 3. — Paroi de canal excréteur pancréatique. Les cellules épithéliales apparaissent avec un gros noyau, un cytoplasme granulaire dans lequel on reconnaît quelques mitochondries et de petits appareils de Golgi. La lumière du conduit est bordée de petites digitations filiformes. (Gr. final : 12 250.)

PLANCHE VI

CELLULES INSULAIRES DE PANCRÉAS D'EMBRYONS JEUNES

- FIG. 1. — Cellules d'embryon âgé de 15 jours disposées autour d'un « tubule » primitif. Les noyaux sont encore gros et centraux; le cytoplasme est granulaire et contient des mitochondries autour du noyau. L'appareil de Golgi apparaît microvésiculaire. (Gr. final : 12 250.)
- FIG. 2. — Cellule d'embryon âgé de 17 jours. Centre golgien où l'on reconnaît les petits paquets de saccules et les microvésicules. Quelques grains de sécrétion et des mitochondries sont disposés à son pourtour. (Gr. final : 52 500.)

PLANCHE VII

CELLULES EXOCRINES DE PANCRÉAS D'EMBRYONS A DES STADES AVANCÉS

- FIG. 1. — Cellule d'embryon âgé de 19 jours. A la base de la cellule, le noyau est petit et quelques doubles lamelles ergastoplasmiques, encore ampullaires. La région supranucléaire est centrée par l'appareil de Golgi avec ses saccules et microvésicules. A son pourtour se trouvent les grains de sécrétion et quelques mitochondries. (Gr. final : 20 000.)
- FIG. 2. — Cellules exocrines d'embryon âgé de 21 jours. La lumière des acini, bordée de fines digitations, est vide. La région supranucléaire est faite de grosses vacuoles golgiennes et de grains de sécrétion abondants. L'ergastoplasme est vésiculaire dans cette région. (Gr. final : 8 600.)

PLANCHE VIII

CELLULES INSULAIRES DE PANCRÉAS D'EMBRYONS JEUNES

- FIG. 1. — Cellule d'embryon âgé de 15 jours, les cellules polygonales ont un noyau central et un cytoplasme granulaire. Les mitochondries sont disposées autour du noyau. (Gr. final : 6 250.)
- FIG. 2. — Cellule d'embryon âgé de 17 jours. A côté du noyau, l'appareil de Golgi avec de nombreuses microvésicules. A son pourtour se tiennent les mitochondries. (Gr. final : 21 750.)

PLANCHE IX

CELLULES INSULAIRES DE PANCRÉAS D'EMBRYON PRÈS DU TERME

FIG. 1. — Cellule d'embryon âgé de 19 jours. Les noyaux sont gros, le cytoplasme est vésiculo-granulaire; certaines cellules contiennent déjà des grains de sécrétion spécifiques (β).

FIG. 2. — Cellule d'embryon âgé de 21 jours; les noyaux sont gros, le cytoplasme est dense et membraneux, les cellules contiennent généralement des grains de sécrétion (β). L'on notera l'appareil de Golgi périnucléaire.

PLANCHE X

FORMATION DES GRAINS DE ZYMOGÈNE
DANS LES CELLULES EXOCRINES DU PANCRÉAS AGÉ DE 19 JOURS

Dans la région supranucléaire, autour de l'appareil de Golgi, se tiennent des grains de sécrétion et des mitochondries. Les formes intermédiaires sont fréquentes à ce stade de l'organogénèse. A noter la lumière acineuse vide et à contour digité. (Gr. final : 31 250.)

PLANCHE XI

CELLULE ENDOCRINE DE PANCRÉAS DE RAT
SACRIFIÉ 24 HEURES APRÈS L'INJECTION IP DE 300 MG/KG D'ALLOXANE

FIG. 1. — Cellule B. Le cytoplasme est vésiculo-granulaire; les mitochondries sont intactes. L'on notera l'absence de granulations spécifiques et la présence de grosses vacuoles à membrane lisse. (Gr. final : 13 500.)

FIG. 2. — Cellule B. Les mitochondries sont assez nombreuses et normales; les grosses vacuoles sont entourées de membrane, mal définies et correspondant aux vacuoles golgiennes. (Gr. final : 16 750.)

PLANCHE XII

CELLULES ENDOCRINES DE PANCRÉAS DE RAT ALLOXANISÉ

FIG. 1. — Cellule B de pancréas de Rat sacrifié 4 heures après l'injection d'alloxane. Les grains de sécrétion spécifique (β) sont contenus dans les alvéoles cytoplasmiques très larges. (Gr. final : 5 150.)

FIG. 2. — Cellule A de pancréas de Rat sacrifié 24 heures après l'injection d'alloxane; la cellule est normale avec son cytoplasme clair, ses mitochondries mêlées aux grains de sécrétion (α). (Gr. final : 5 150.)

FIG. 3. — Cellule A de pancréas de Rat sacrifié 24 heures après l'injection d'alloxane. Le cytoplasme est clair; les grains de sécrétion (α) et les mitochondries sont intacts. (Gr. final : 10 500.)

PLANCHE XIII

CELLULE ENDOCRINE DE PANCRÉAS DE RAT
AYANT REÇU UNE INJECTION QUOTIDIENNE DE 50 MG/KG DE SULFAMIDES
PENDANT 5 JOURS

FIG. 1. — Cellule B. Le cytoplasme dense contient de nombreuses doubles lamelles lisses parfois accolées en paquets. (Gr. final : 43 750.)

FIG. 2. — Cellule B avec doubles lamelles lisses, ses grains de sécrétion spécifiques (β) et ses mitochondries. (Gr. final : 37 500.)

PLANCHE XIV

PANCRÉAS DE RAT SACRIFIÉ 5 JOURS APRÈS SURRÉNALECTOMIE

FIG. 1. — Cellule exocrine avec son appareil de Golgi. Les saccules et les micro-vésicules sont peu nombreux et moyennement contrastés. (Gr. final : 31 250.)

FIG. 2. — Section d'acinus; les noyaux sont petits et denses; l'ergastoplasme est fin; la région supranucléaire contient quelques grains de sécrétion et de nombreuses vacuoles. (Gr. final : 6 250.)

PLANCHE XV

PANCRÉAS DANS CERTAINES SITUATIONS PHYSIOLOGIQUES
OU EXPÉRIMENTALES

FIG. 1. — Cellule exocrine de pancréas de Rat mis à jeun pendant 48 heures. L'ergastoplasme est fait de doubles lamelles très espacées entre elles; les mitochondries sont épaisses. (Gr. final : 32 000.)

FIG. 2. — Cellule exocrine de pancréas de Rat mis à jeun pendant 48 heures; corpuscules de dégénérescence au sein de l'ergastoplasme. (Gr. final : 32 000.)

FIG. 3. — Cellules exocrines de pancréas de Rat surrénalectomisé. Les grains de sécrétion sont clairs et présentent parfois des images de dégénérescence hydro-pique. (Gr. final : 13 500.)

PLANCHE XVI

TRANSFORMATION ACINO-INSULAIRE
CHEZ UNE RATE GESTANTE DE 28 JOURS

FIG. 1. — Cellule exocrine de halo préinsulaire; à leur base l'on rencontre souvent, au sein de l'ergastoplasme, des corpuscules lipidiques. Les vibrations qui existent à leur niveau s'expliquent par la forte densité. (Gr. final : 37 500.)

FIG. 2. — Cellule de transformation acino-insulaire présentant côte à côte des grains de sécrétion exocrines et endocrines (β). L'ergastoplasme apparaît dans ces cellules, lâche et vésiculaire. (Gr. final : 12 000.)

FIG. 3. — Cellules de transformation acino-insulaire. Le cytoplasme présente un ergastoplasme vésiculaire et contient des grains de sécrétion exocrines et endocrines (β). (Gr. final : 12 000.)

PLANCHE XVII

CELLULES SÉCRÉTOIRES DE PANCRÉAS D'EMBRYON DE 18 JOURS,
MIS EN CULTURE SUR MILIEU STANDARD DE WOLFF ET HOFFEN
PENDANT 3 JOURS

FIG. 1 — Vue d'ensemble de sections d'acini. Lumières acineuses vides à contour épais et régulier. Cellules acineuses avec noyau basal; région supranucléaire, avec centre golgien et quelques grains de sécrétion. (Gr. final : 7 000.)

FIG. 2. — Vue d'ensemble des cellules insulaires. Noyau irrégulier; cytoplasme vésiculo-granulaire; mitochondries normales et quelques rares grains « immatures » petits et peu contrastés. (Gr. final : 12 000.)

PLANCHE XVIII

CELLULE EXOCRINE DE PANCRÉAS D'EMBRYON DE 18 JOURS,
MIS EN CULTURE 3 JOURS SUR MILIEU STANDARD

Appareil de Golgi avec macrovésicules et quelques petits saccules aplatis et peu contrastés; grains de zymogène; rares doubles lamelles ergastoplasmiques, parfois enroulées en Nebenkern. (Gr. final : 20 000.)

PLANCHE XIX

CELLULE DE PANCRÉAS D'EMBRYON DE 19 JOURS,
MIS EN CULTURE SUR MILIEU STANDARD,
ET ASSOCIÉE EN PARABIOSE A DES FRAGMENTS DE GLANDE SURRÉNALE

FIG. 1. — Grains de sécrétion spécifiques avec leur membrane externe (β). (Gr. final : 19 500.)

FIG. 2. — Grains de sécrétion spécifiques (β) avec leur substance très contrastée et leur membrane externe baignant dans un cytoplasme dense où l'on reconnaît quelques débris membranaires. (Gr. final : 30 000.)

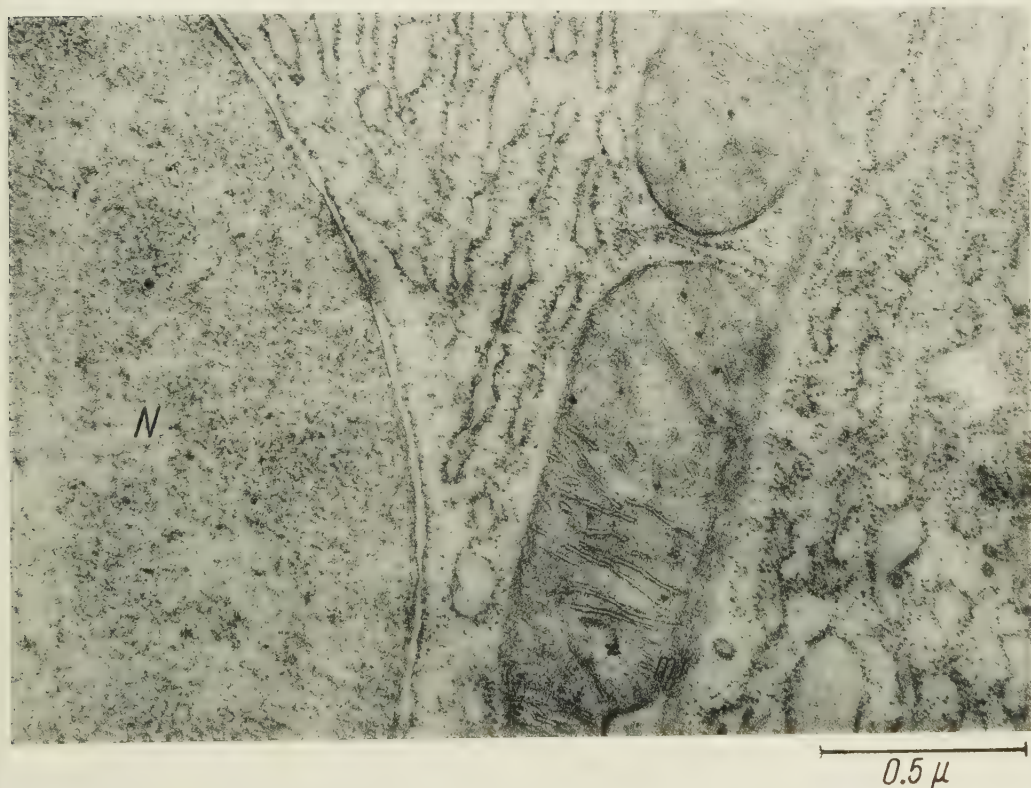
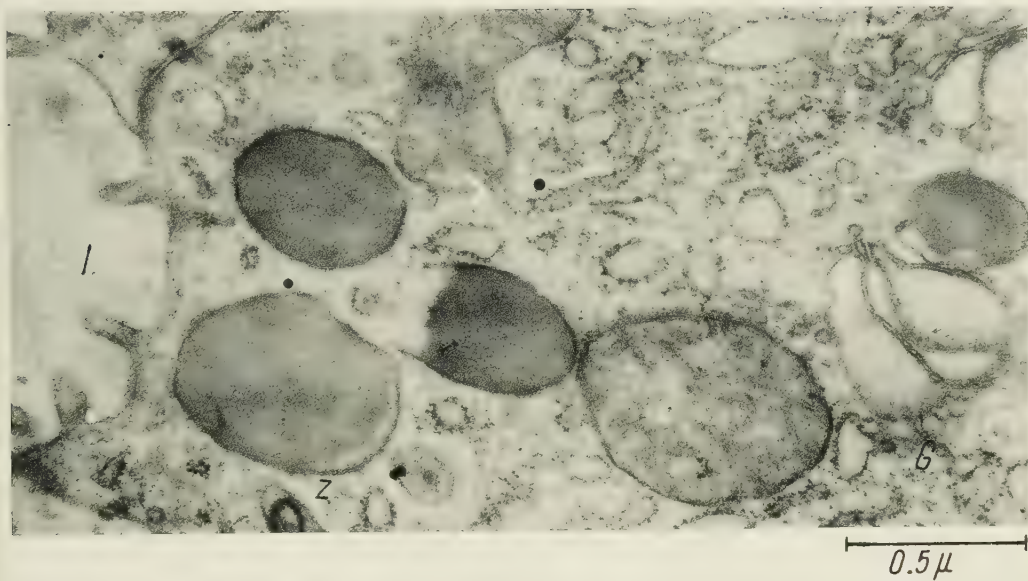
PLANCHE XX

CELLULES ENDOCRINES DE PANCRÉAS D'EMBRYON DE 15 JOURS, MIS EN CULTURE 3 JOURS
SUR MILIEU STANDARD ET ASSOCIÉ A DES FRAGMENTS DE GLANDE SURRÉNALE D'EMBRYON
DE 19 JOURS.

FIG. 1. — Cellule endocrine avec grains de sécrétion spécifiques (β) mêlés à des mitochondries. (Gr. final : 16 500.)

FIG. 2. — Cellule endocrine avec un cytoplasme dense et mêlé à des mitochondries, des grains de sécrétion spécifiques (β). A noter leur membrane externe. (Gr. final : 22 000.)

FIG. 3. — Plaque endocrine avec cytoplasme dense membraneux et vésiculaire, grains de sécrétion spécifiques (β) et mitochondries. (Gr. final : 16 000.)

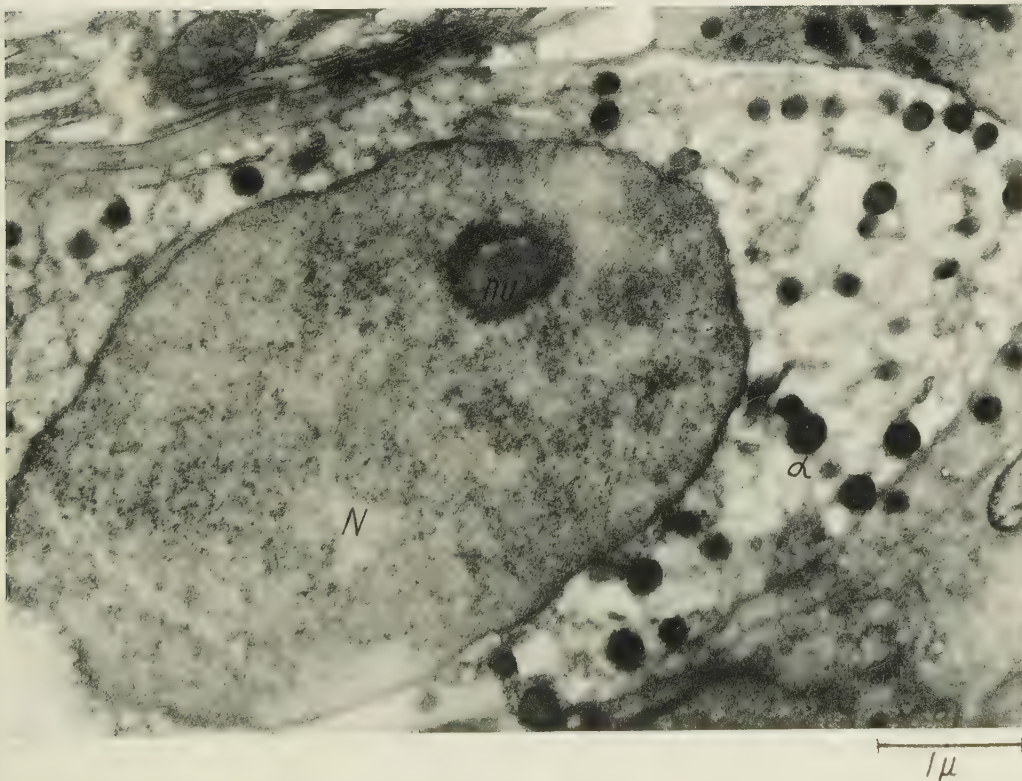
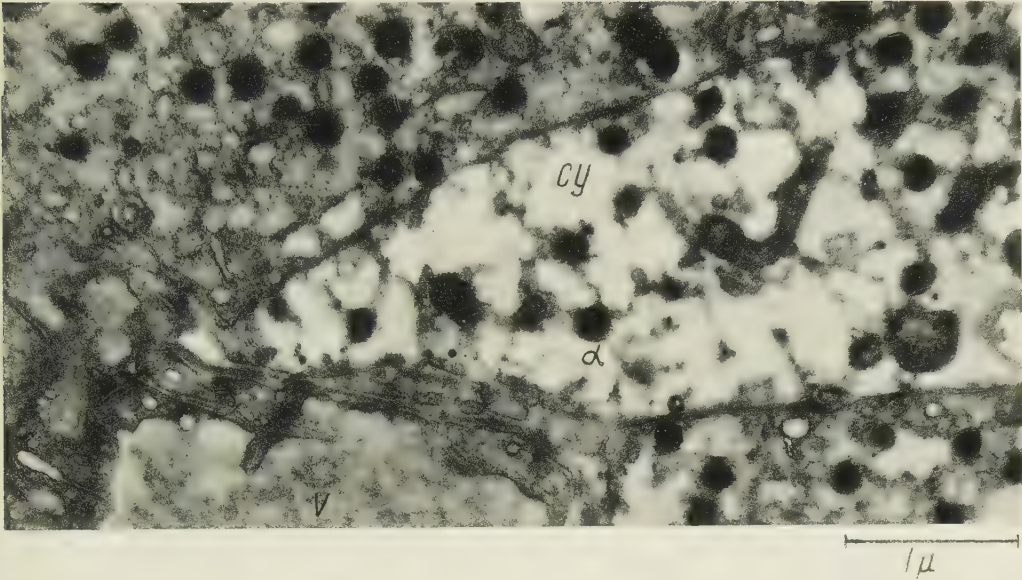


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellule exocrine de pancréas de Rat adulte.



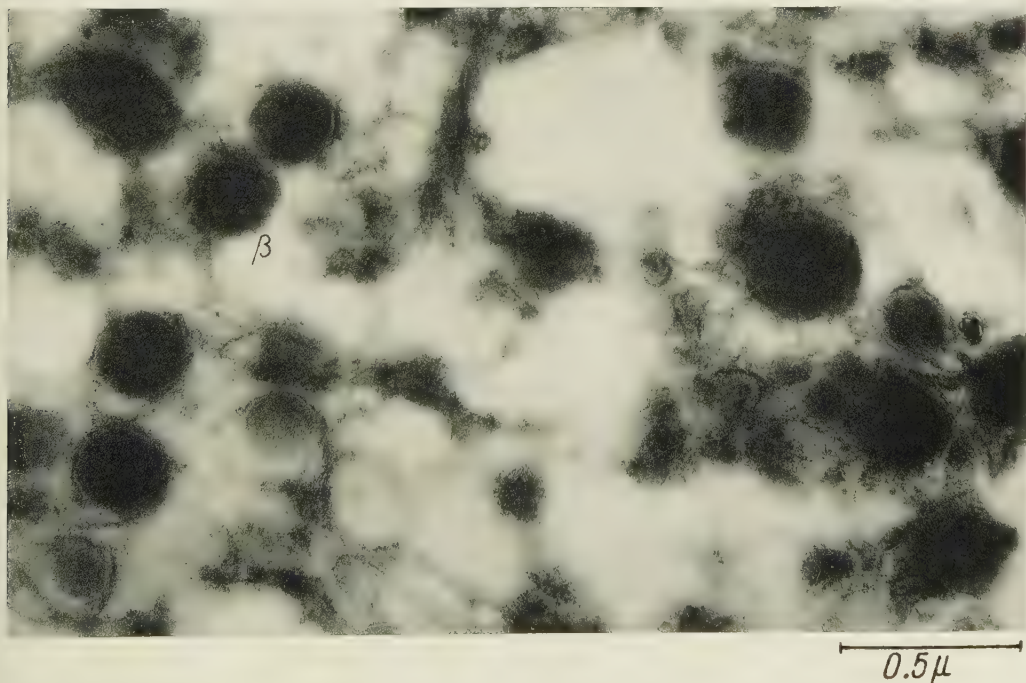
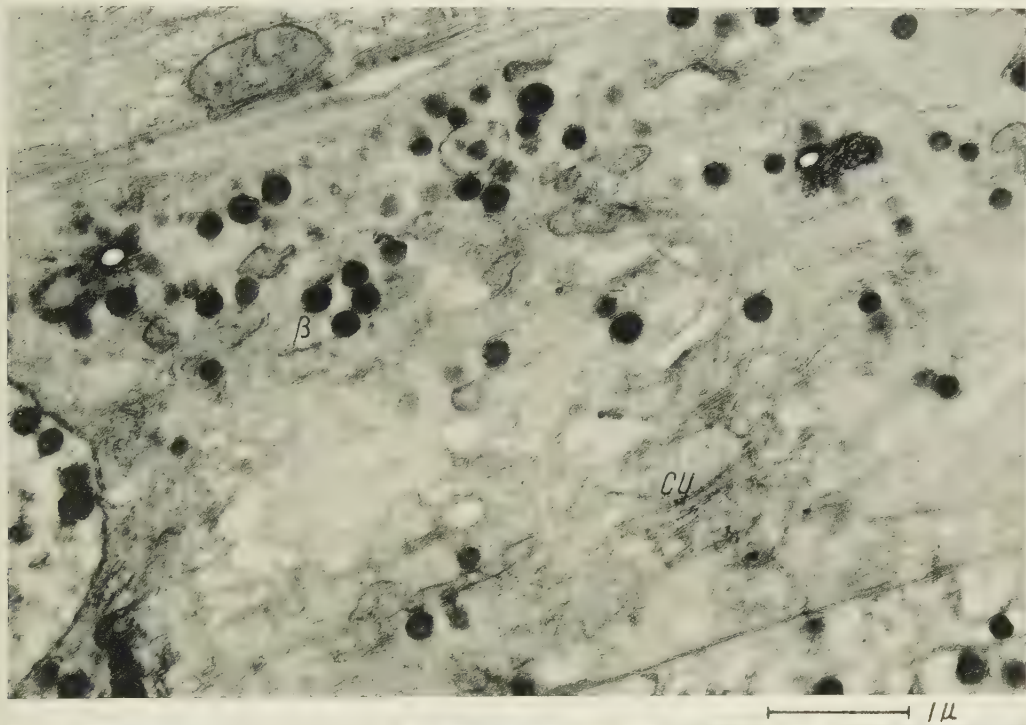


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellule A de pancréas de Rat adulte.



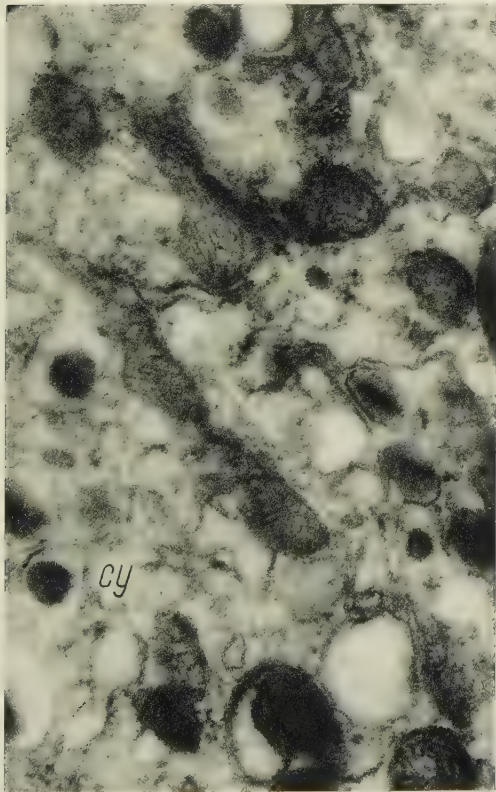
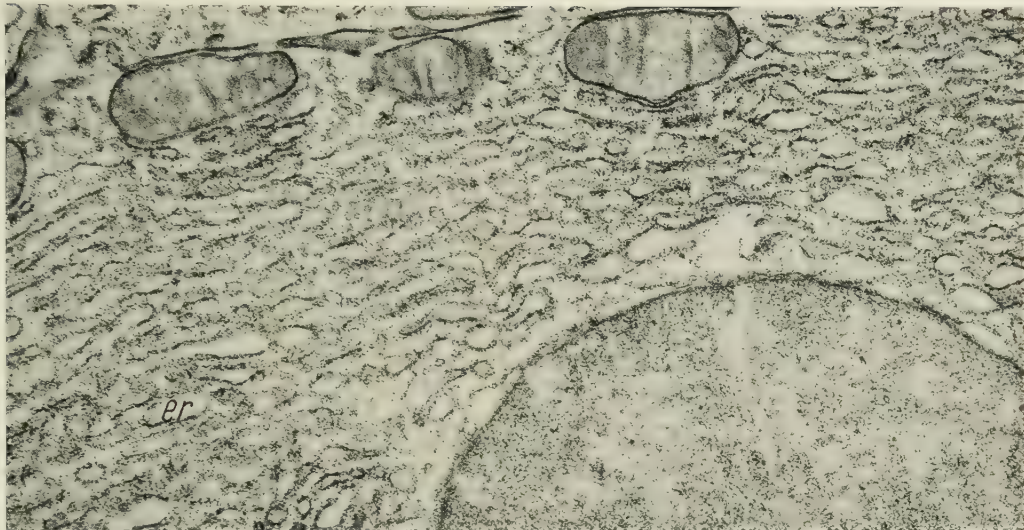


Auct. phot.

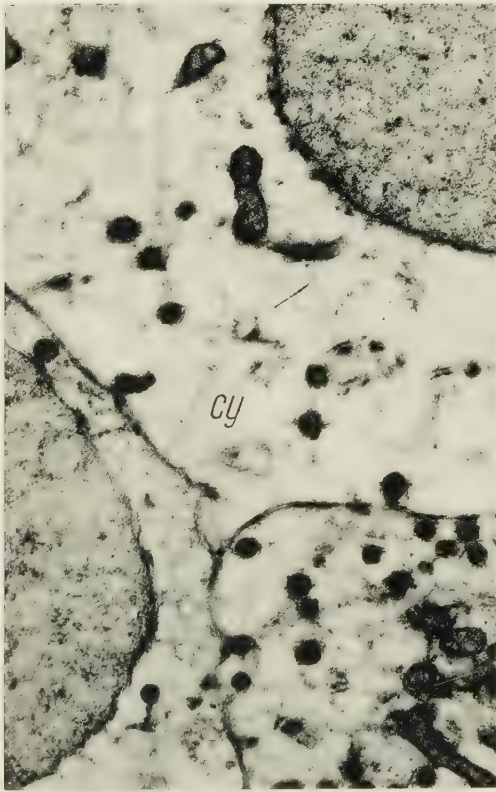
Phototypie Brunissen - Paris

Cellule B de pancréas de Rat adulte.





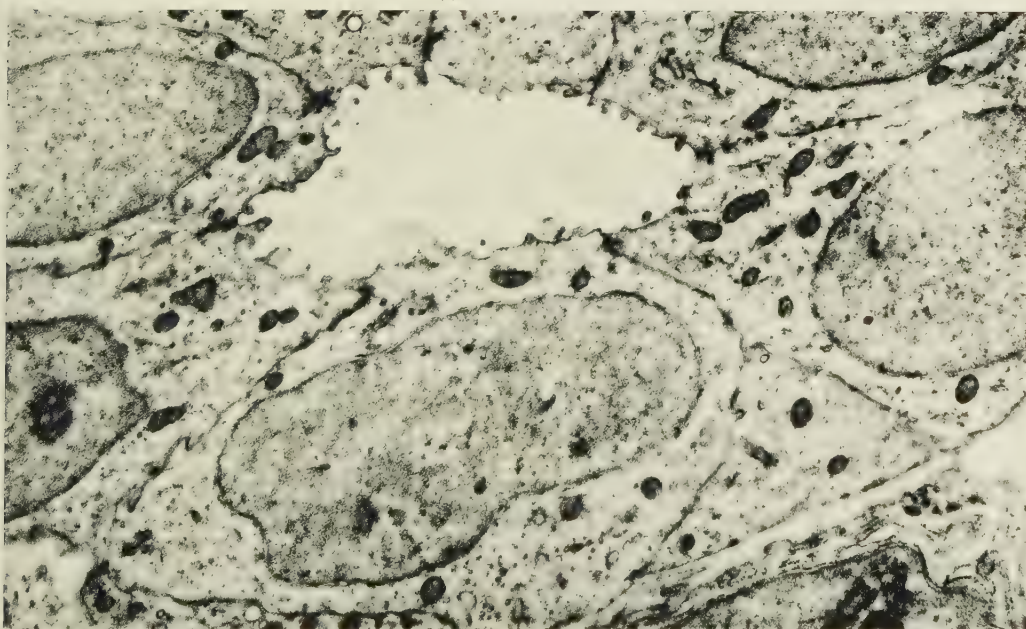
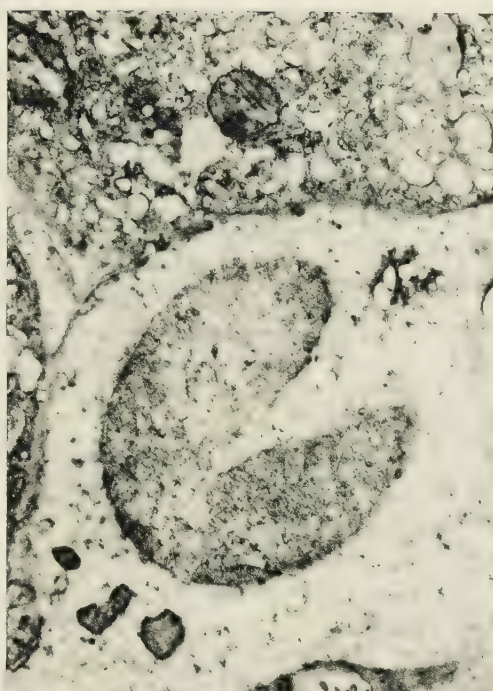
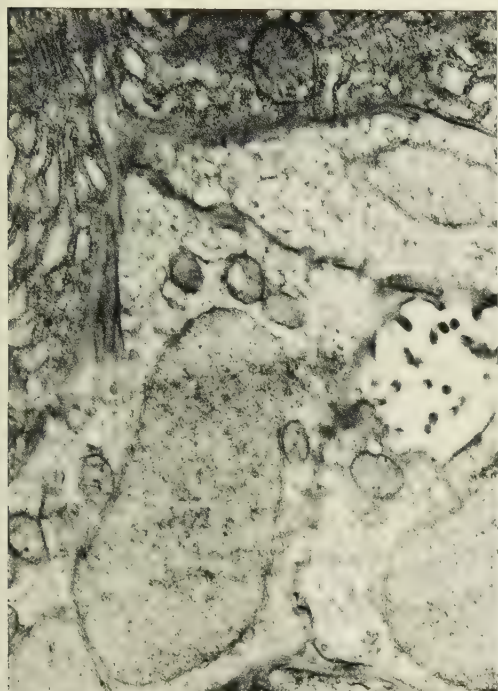
Auct. phot.



Phototypie Brunissen - Paris

Cytoplasmes des cellules sécrétrices du pancréas de Rat adulte.

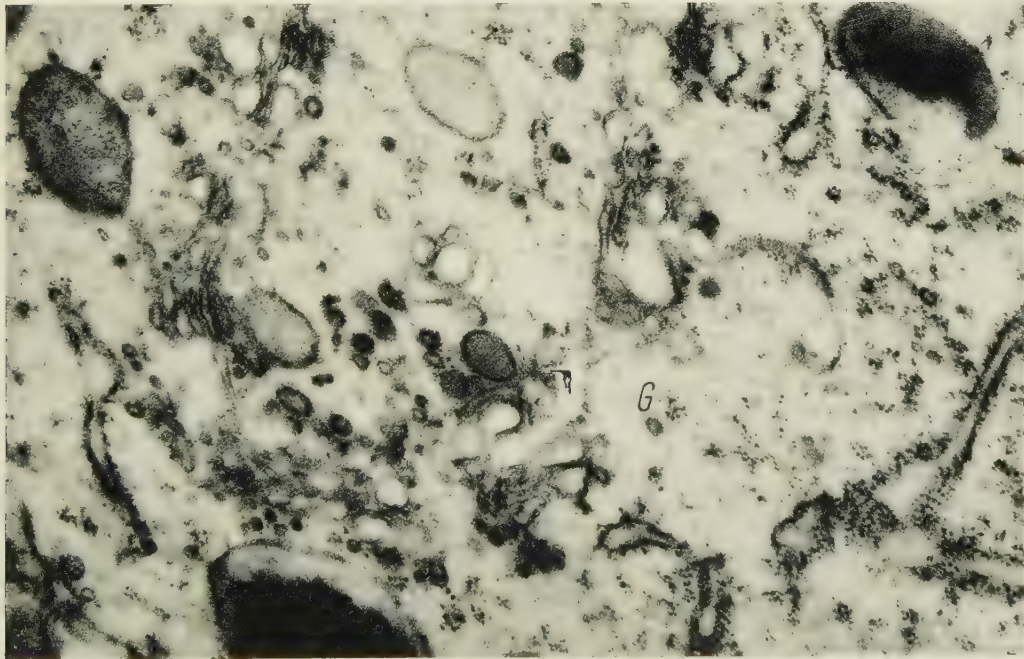
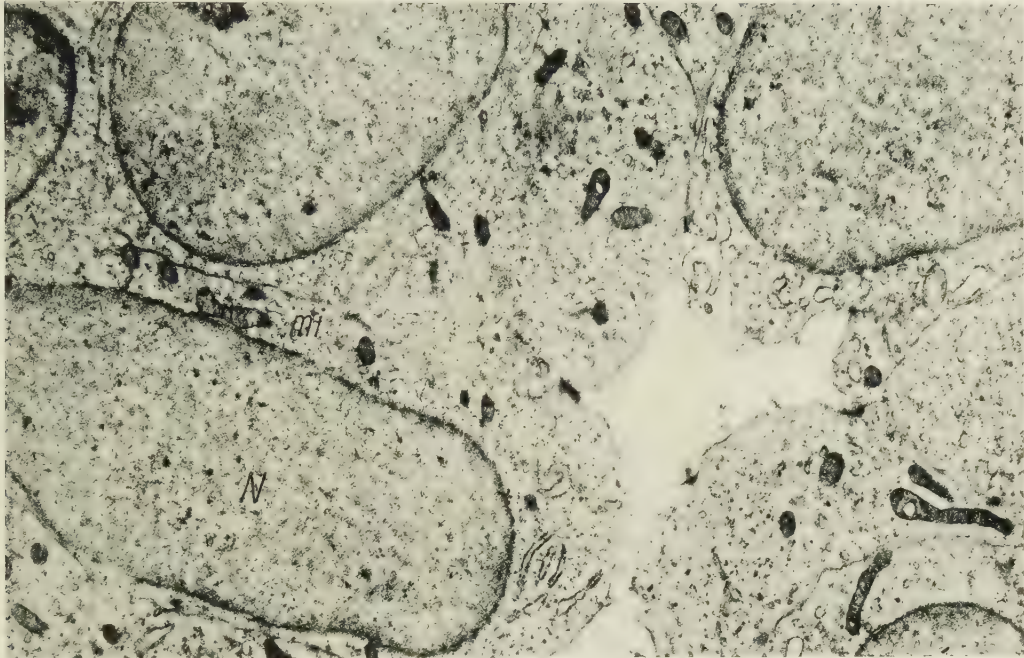




Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules centro-acineuses et cellules de canal pancréatique de Rat adulte.

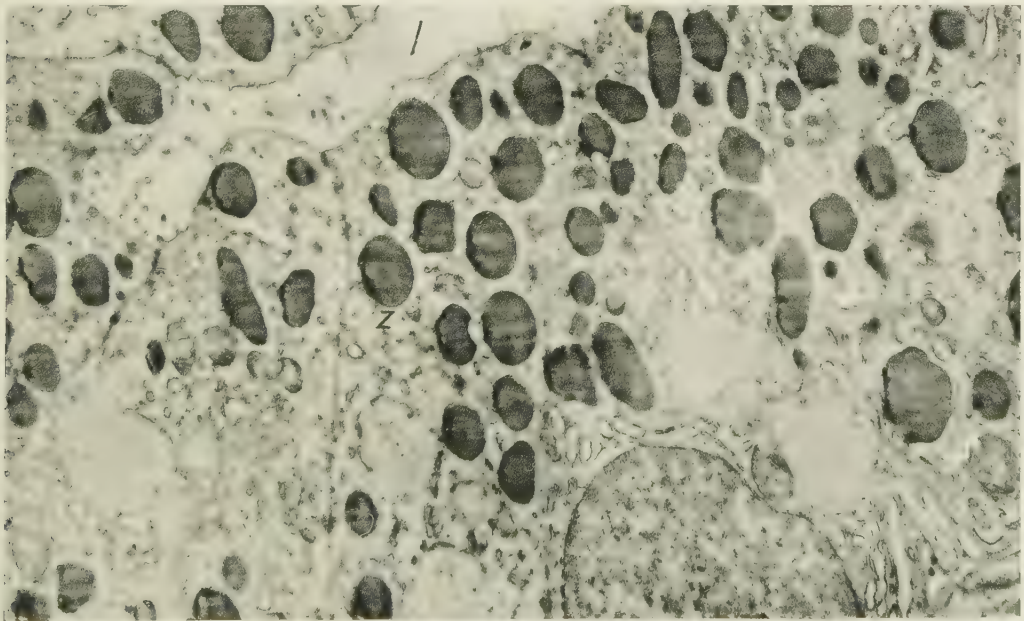
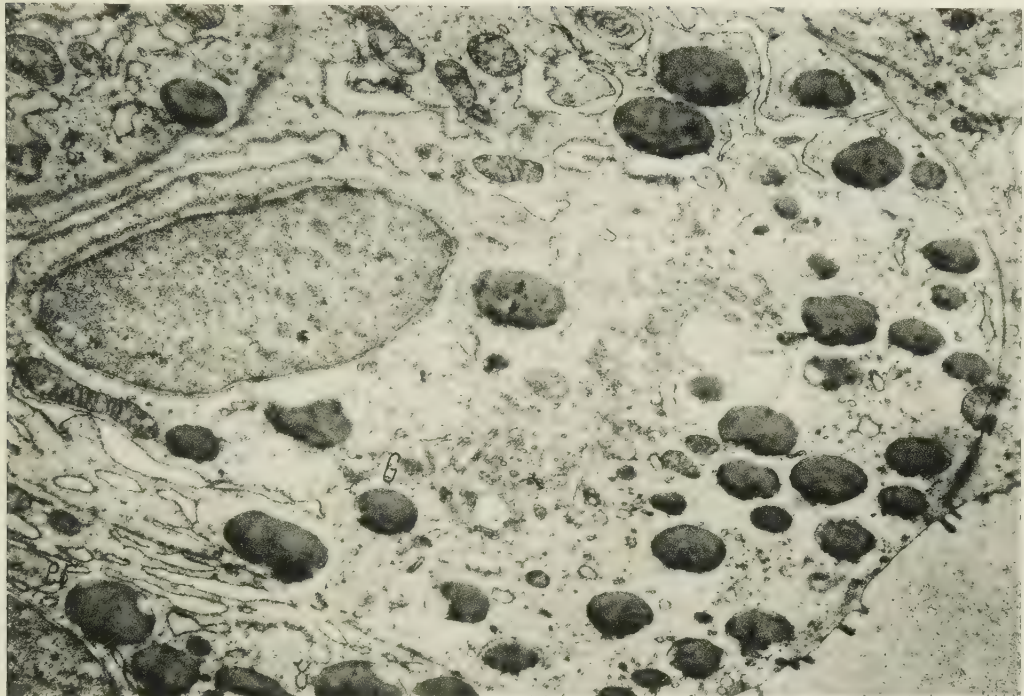


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules exocrines de pancréas d'embryon de Rat à un stade jeune.



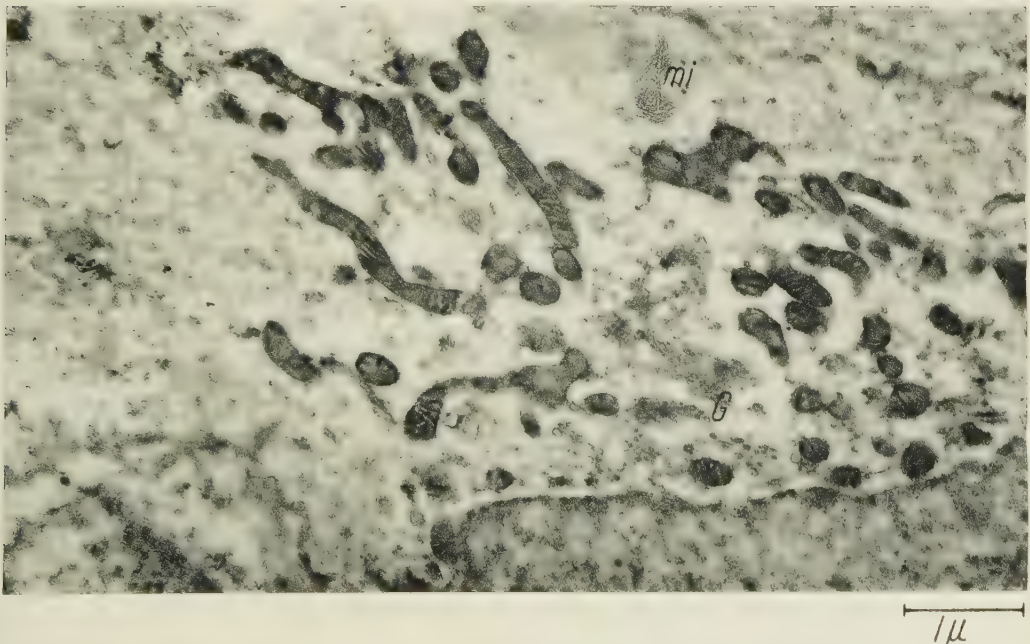
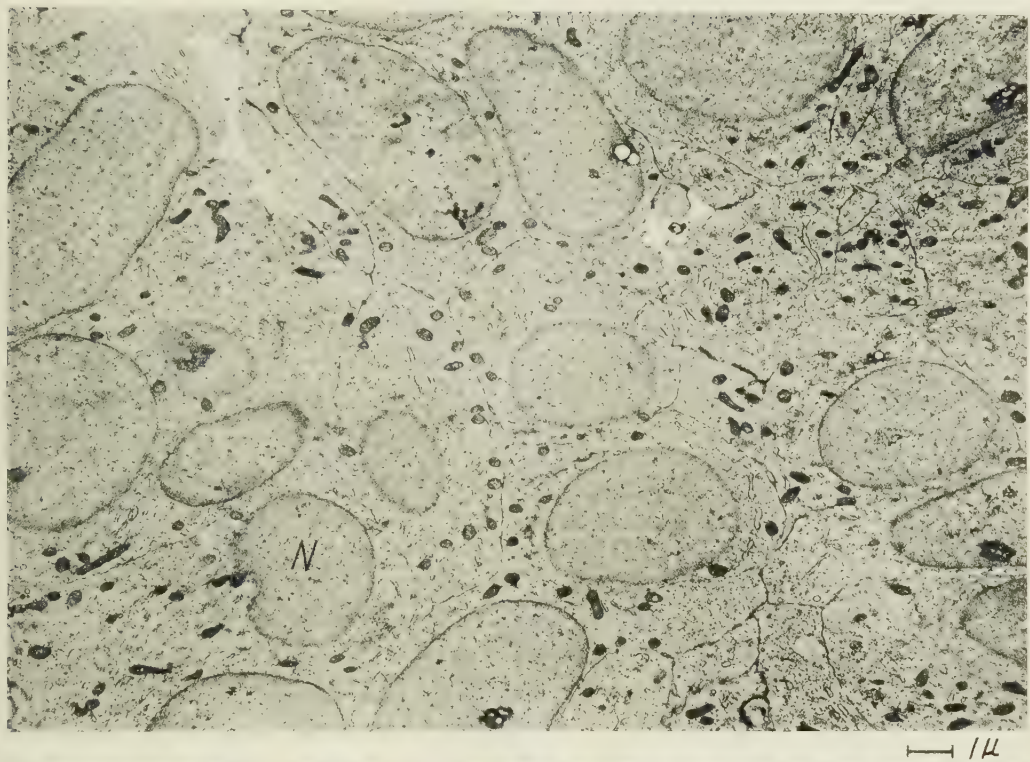


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules exocrines de pancréas d'embryon de Rat près du terme.



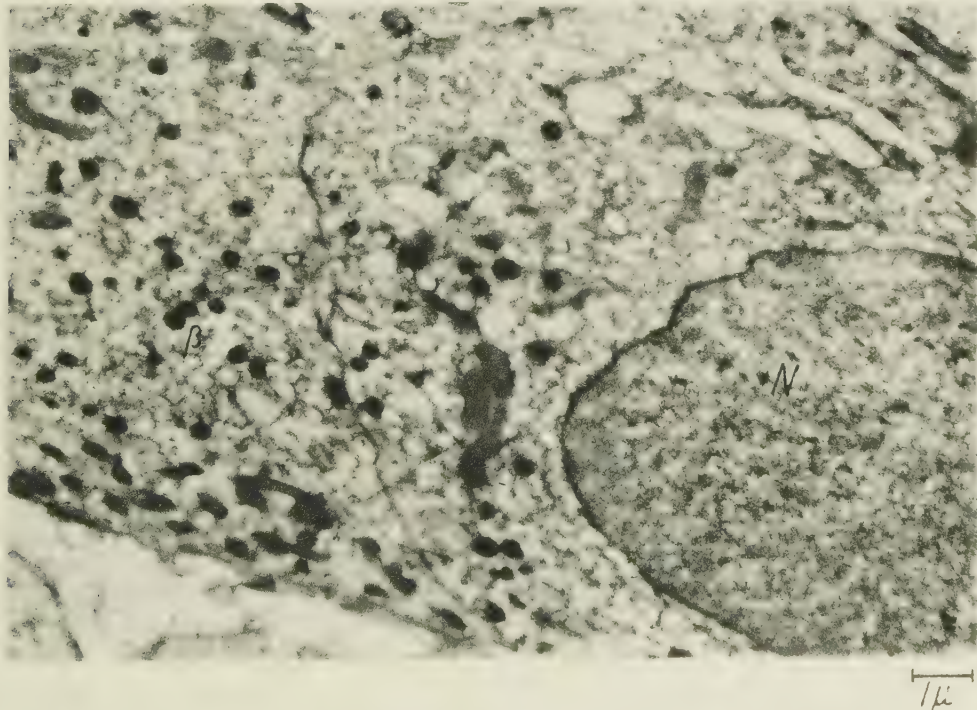
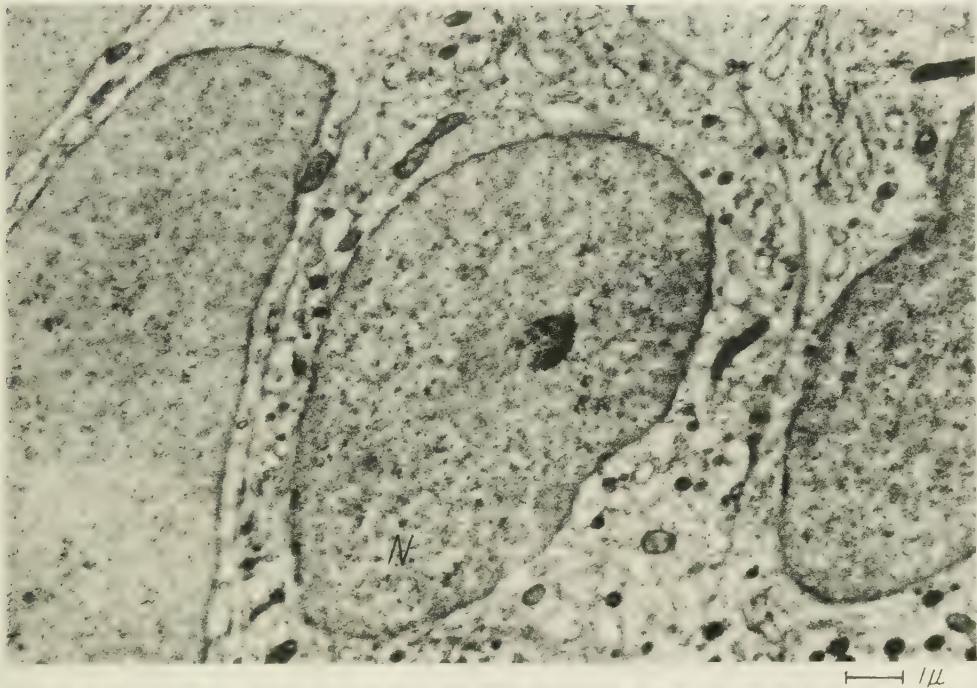


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules endocrines de pancréas d'embryon de Rat à un stade jeune.



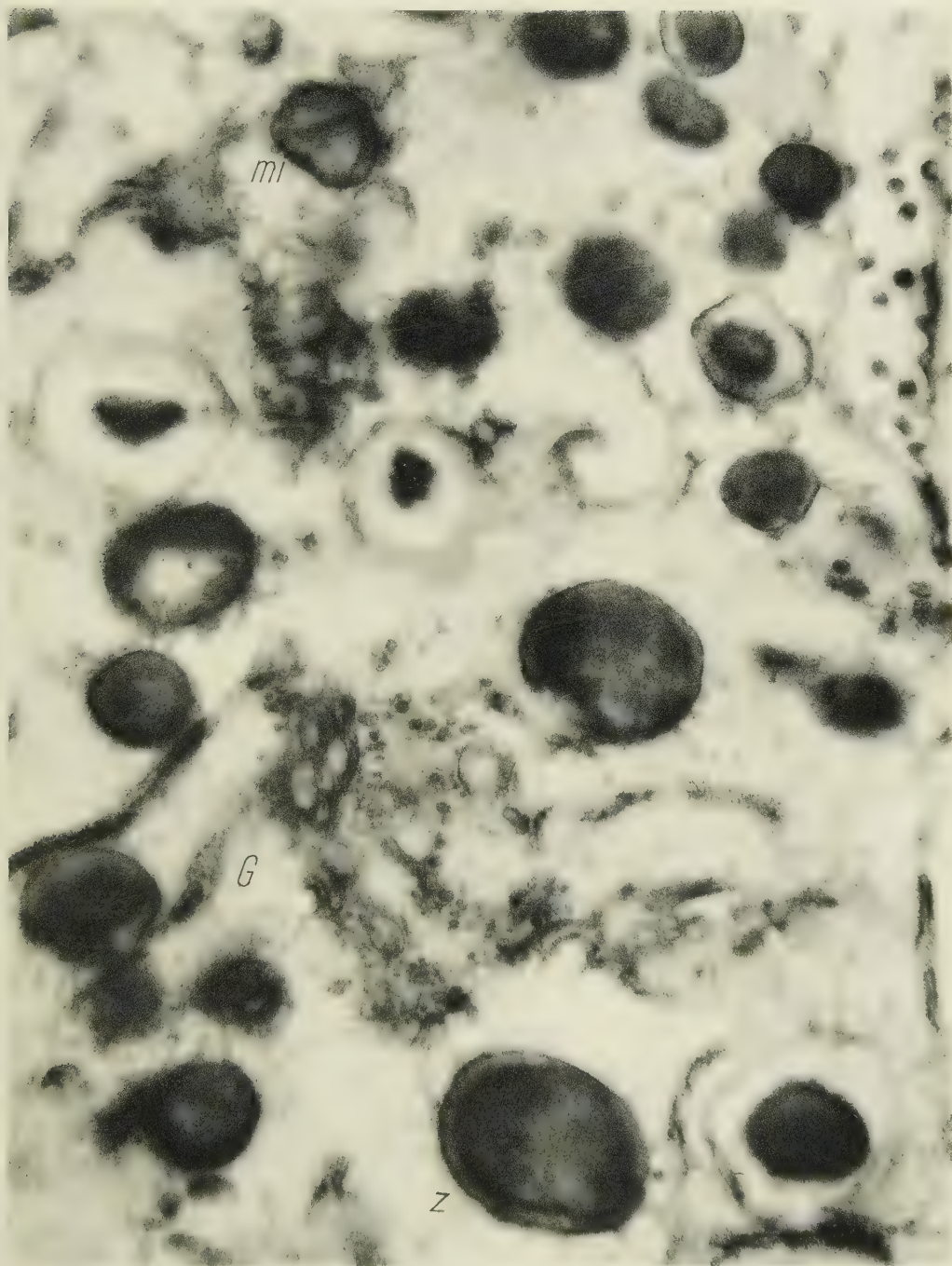


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules endocrines de pancréas d'embryon de Rat près du terme.

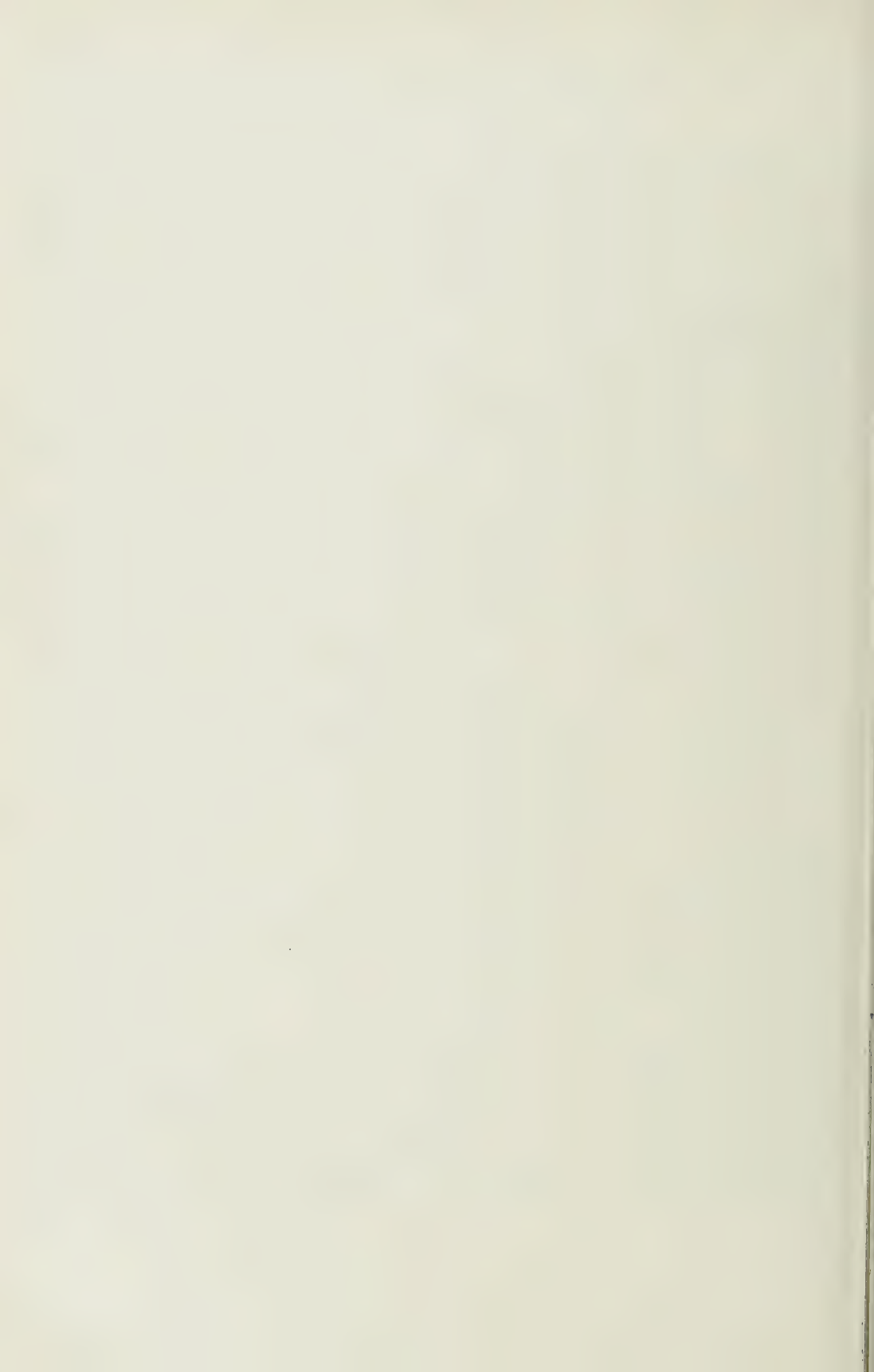


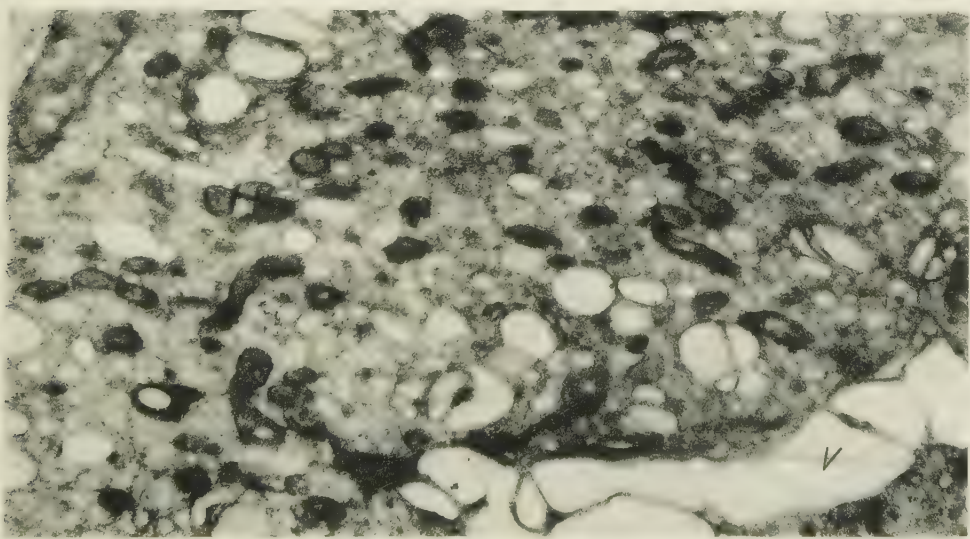
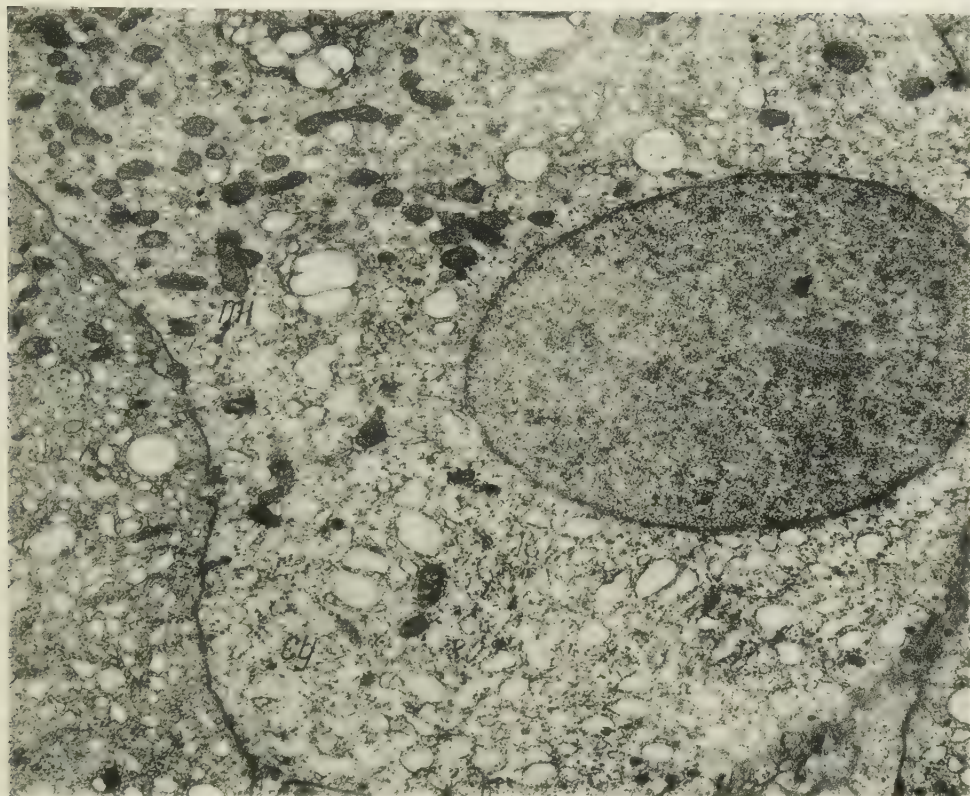


Auct. phot.

0.5 μ
Phototype Brunissen - Paris

Elaboration des grains de sécrétion zymogène chez l'embryon de Rat.



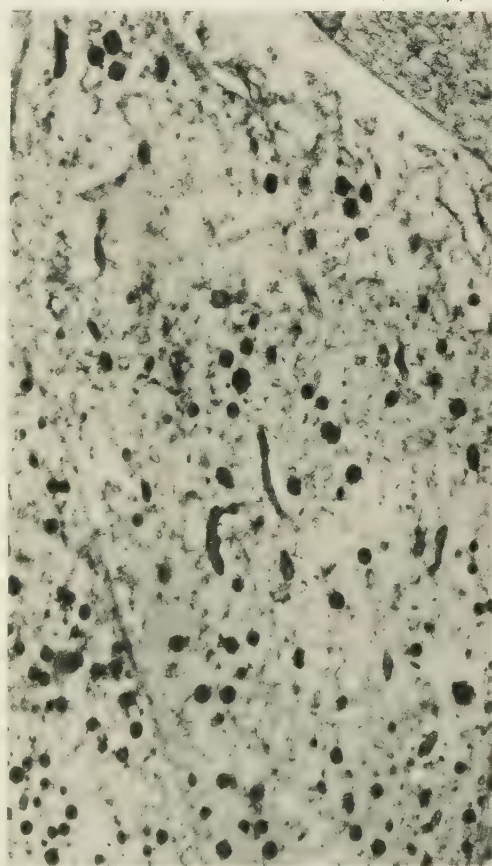
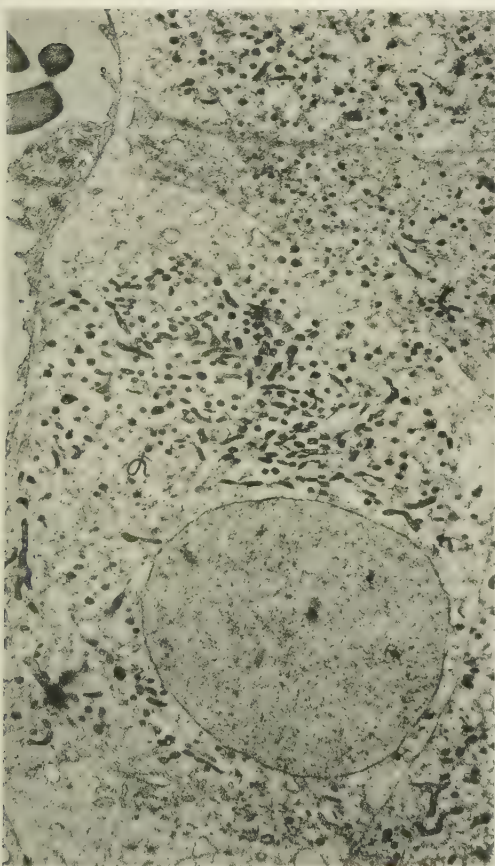
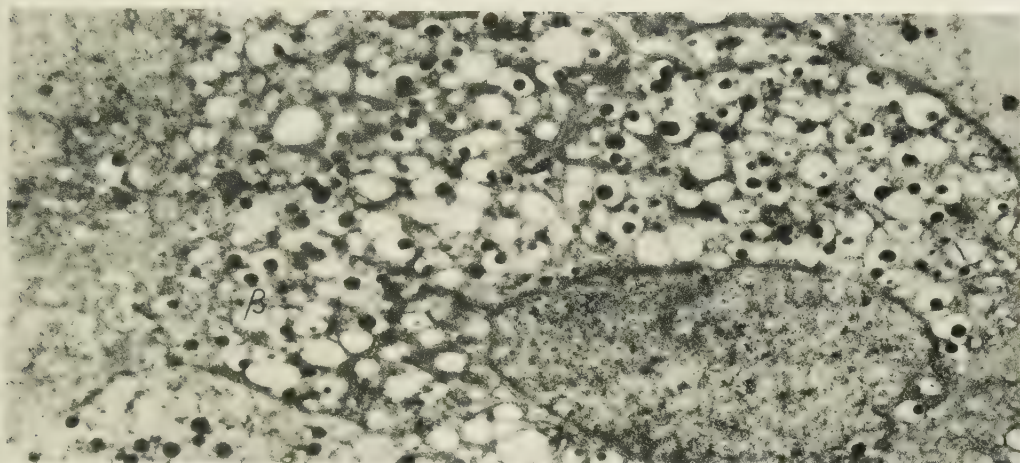


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellule B de pancréas de Rat traité à l'alloxane.



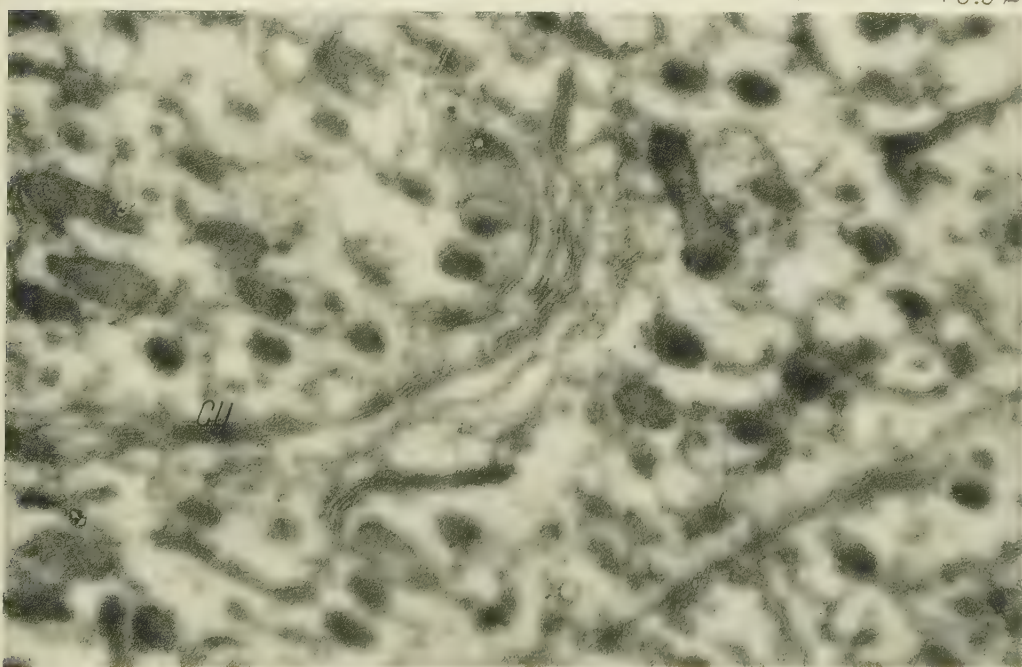
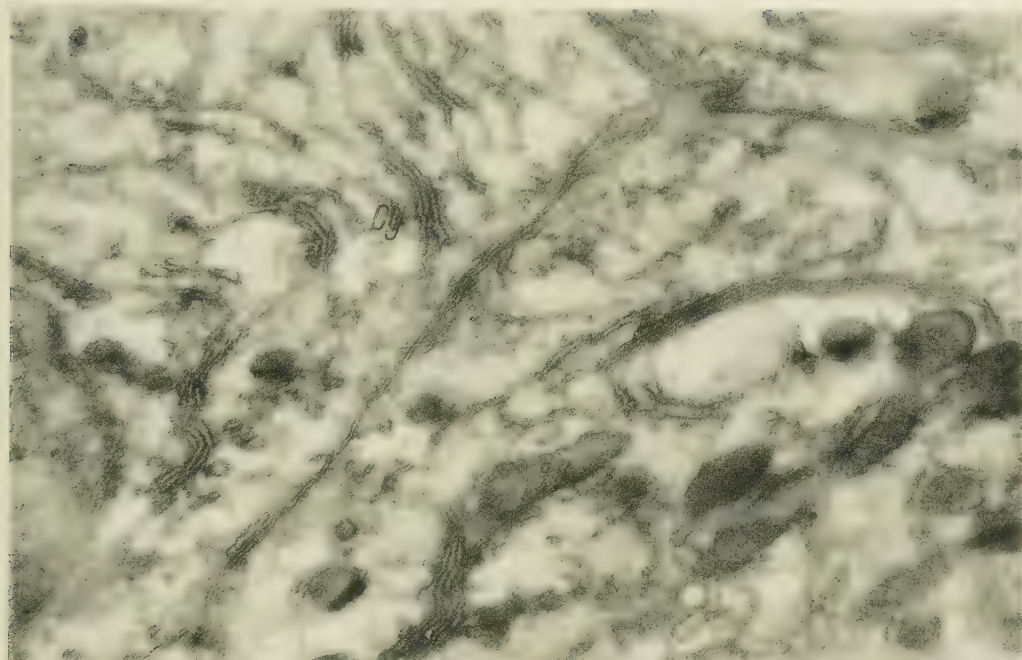


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules endocrines de pancréas de Rat traité à l'alloxane.
en haut : cellule B, en bas : cellule A.



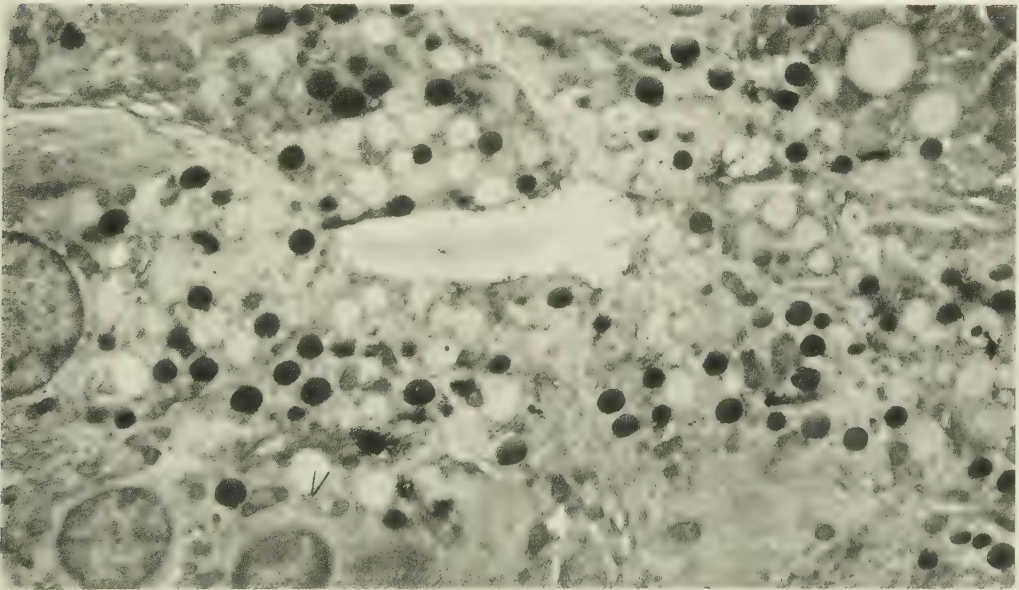
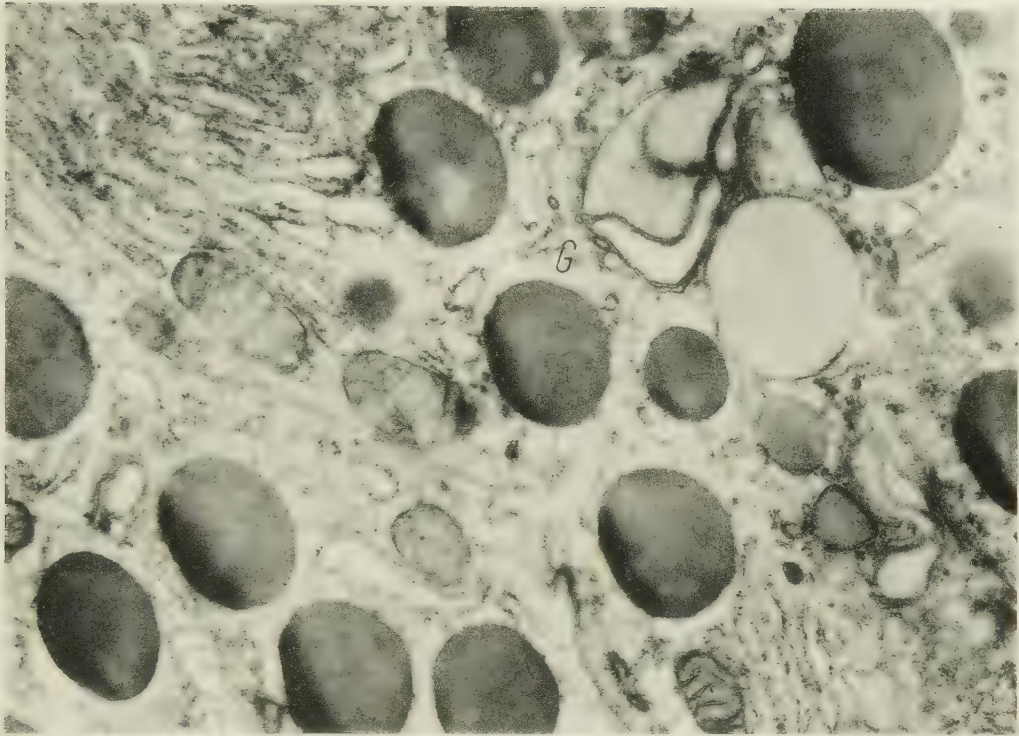


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules B de pancréas de Rat traité par les sulfamides hypoglycémiantes.



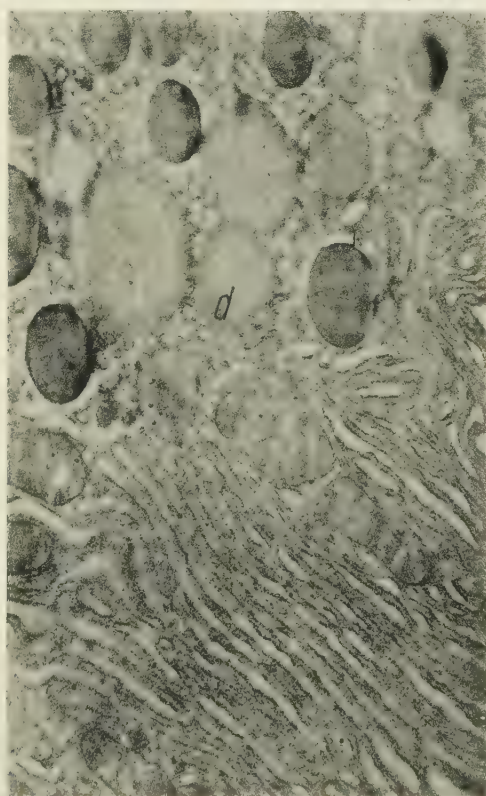
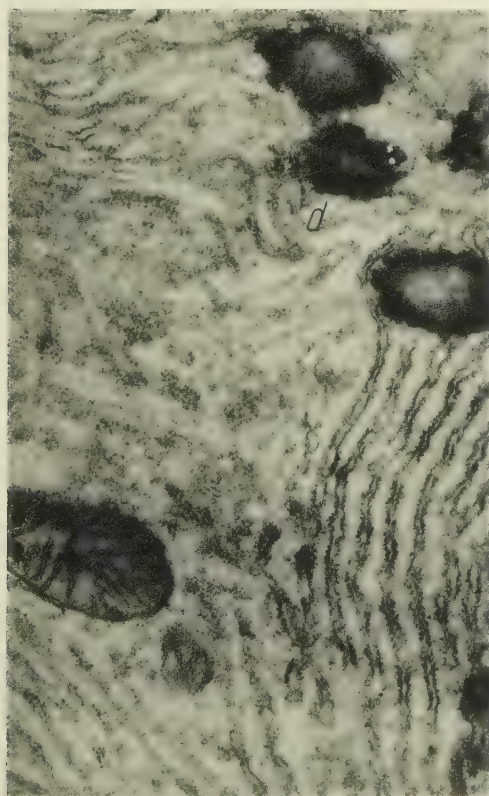
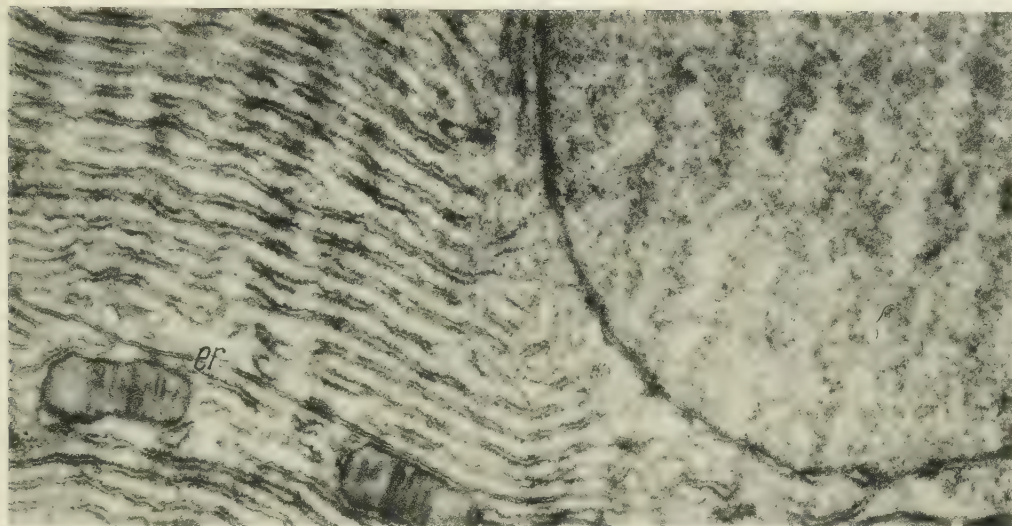


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules exocrines de pancréas de Rat surrénalectomisé.



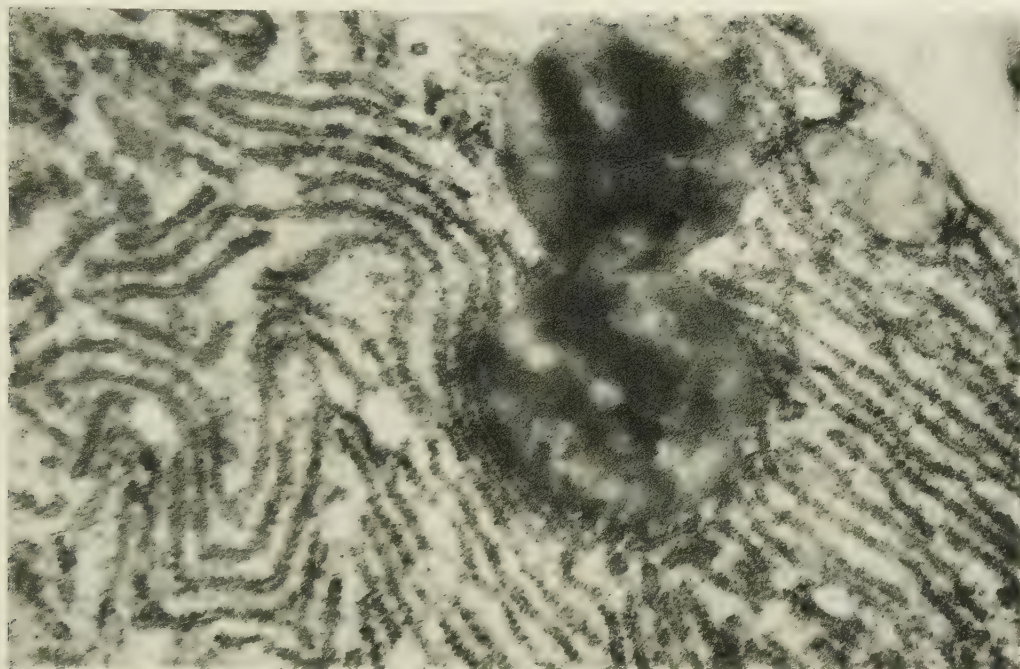


Auct. phot.

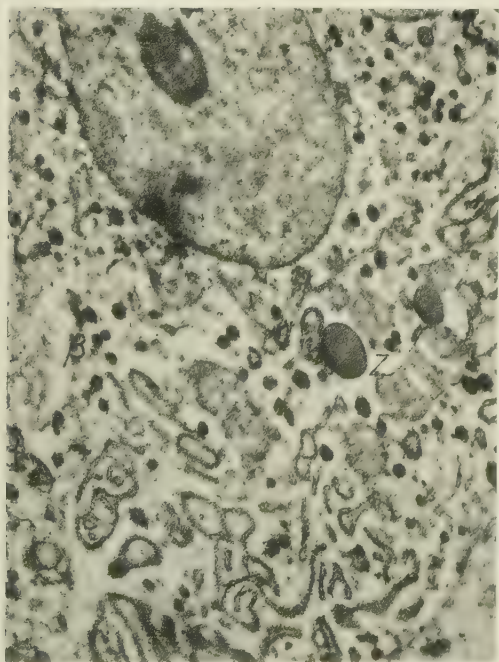
Phototypie Brunissen - Paris

Cellules exocrines de pancréas de Rat soumis au jeûne (en haut et en bas, à gauche) ou surrenalectomisé (en bas, à droite).



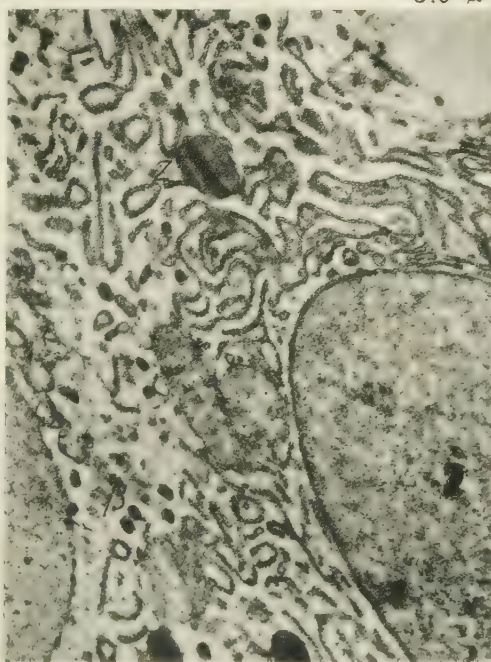


0.5 μ



1 μ

Auct. phot.

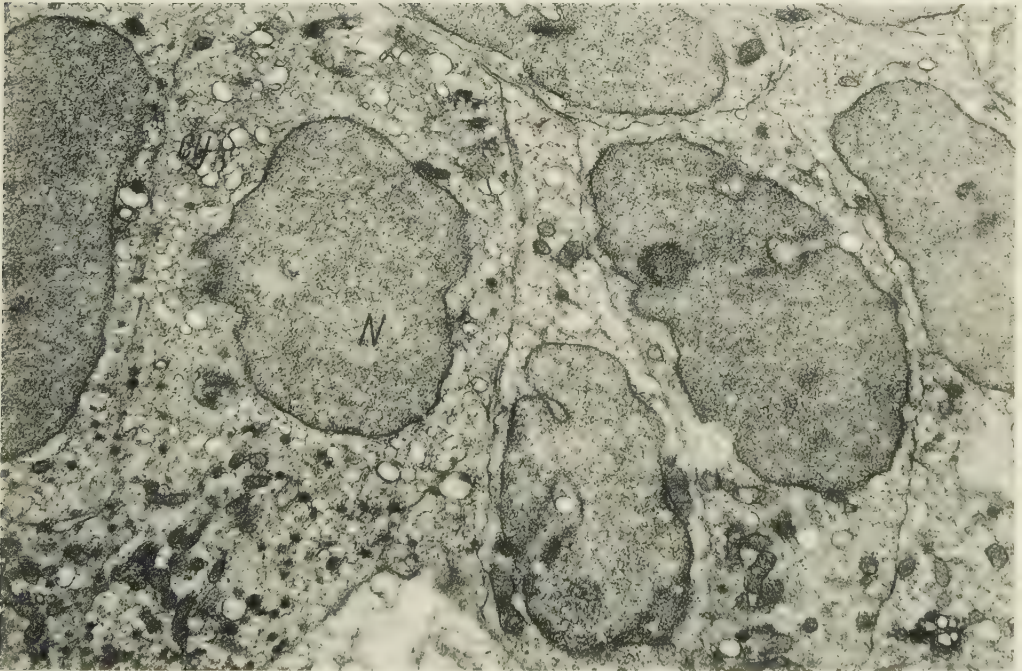
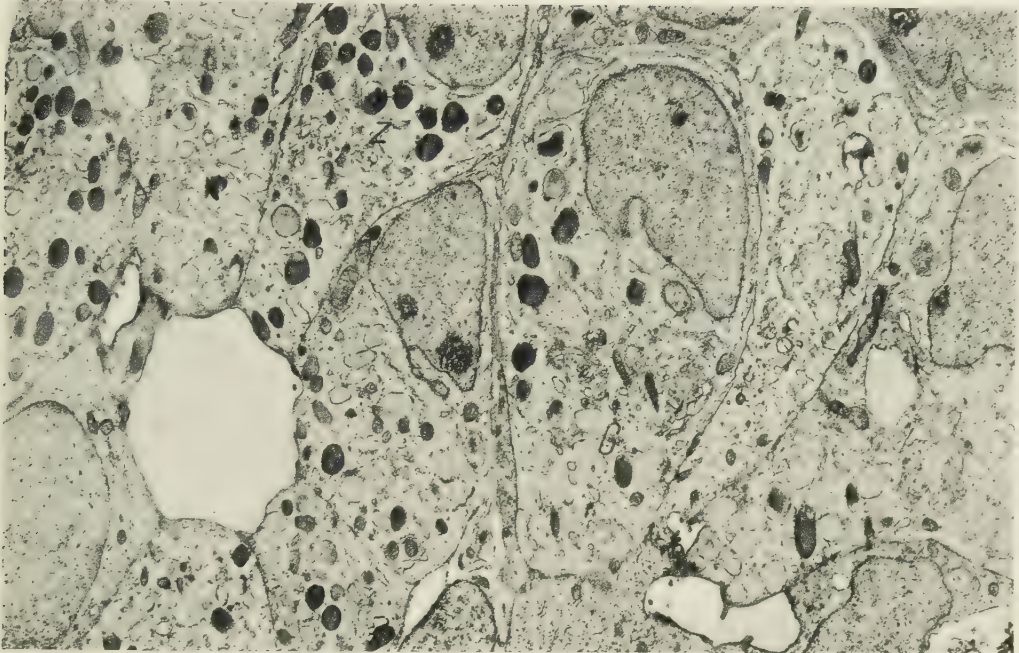


1 μ

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules pancréatiques de la Rate gestante, près du terme.



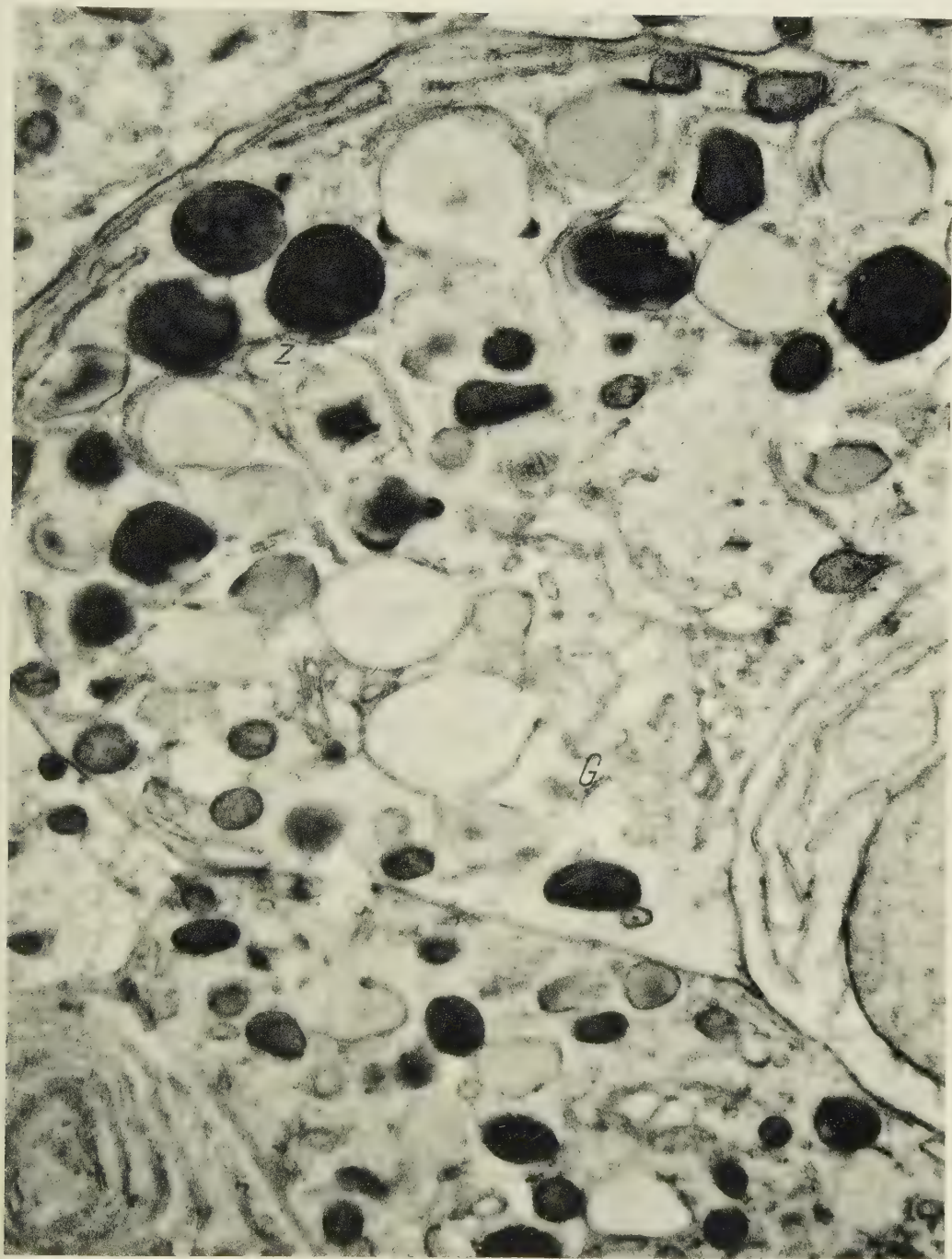


Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Acini et îlot endocrine de fragment de pancréas d'embryon de Rat, mis en culture dans le milieu de Wolf et Haffen.





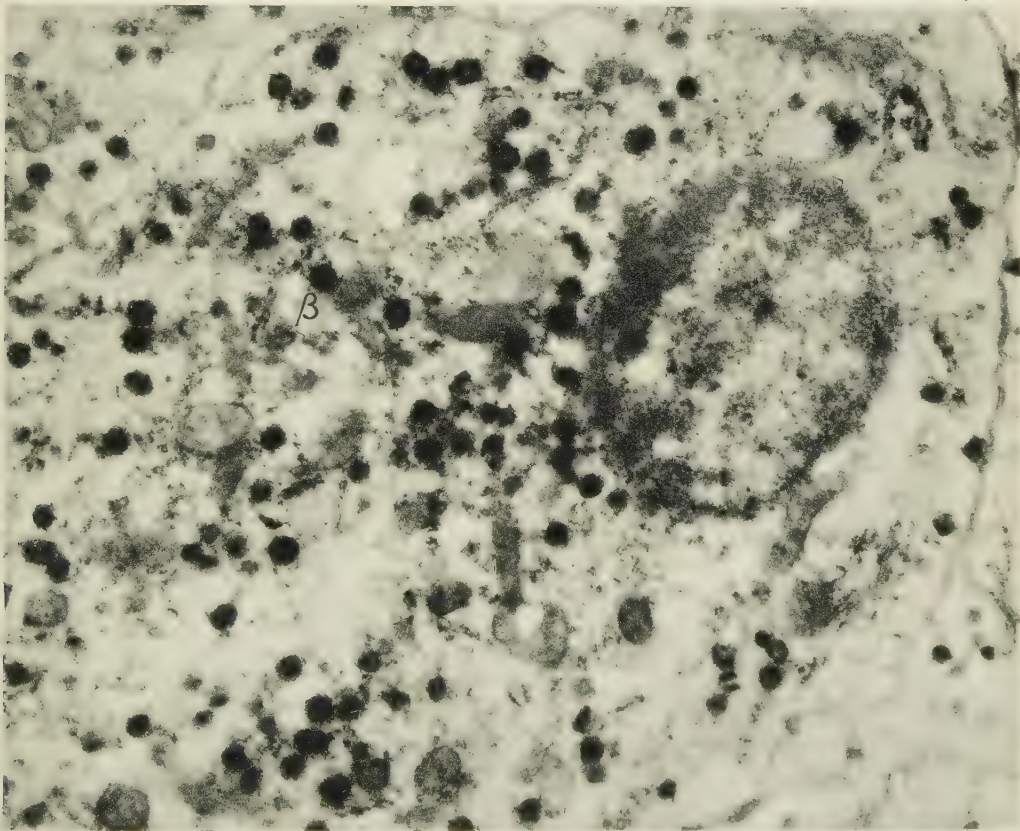
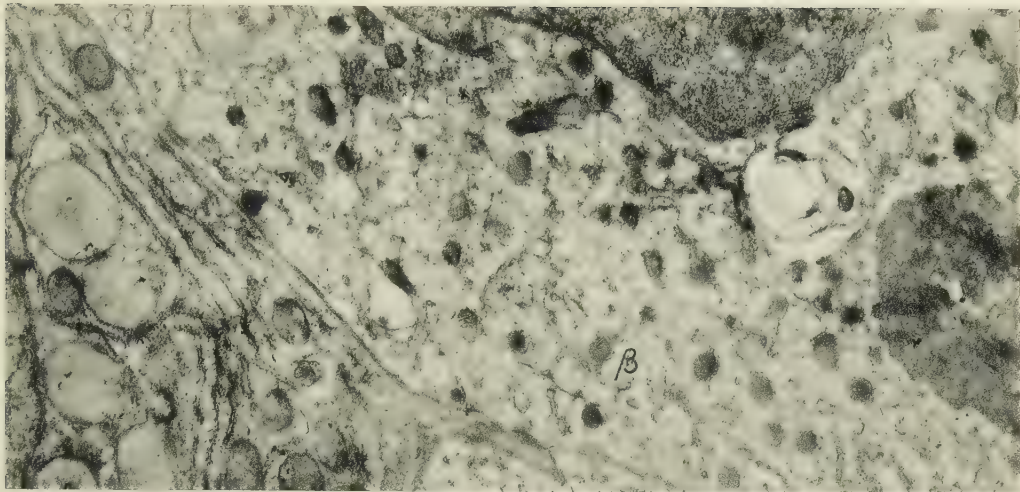
1 μ

Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

**Cellule exocrine de fragment de pancréas d'embryon, mis en culture sur milieu standard
de Wolff et Haffen.**



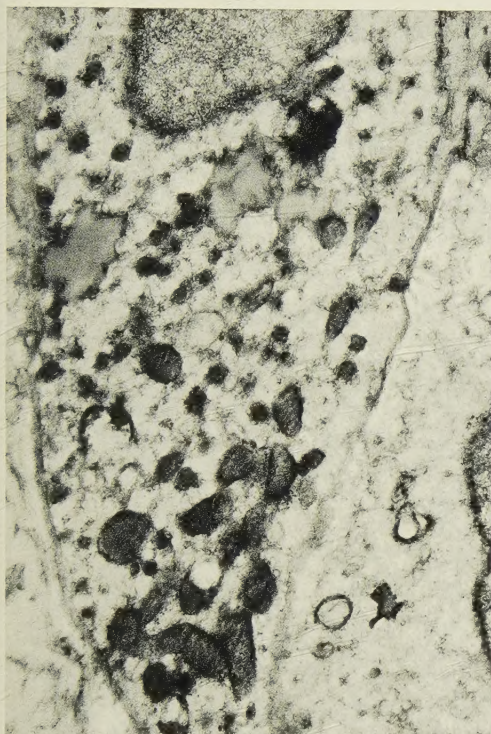


Auct. phot.

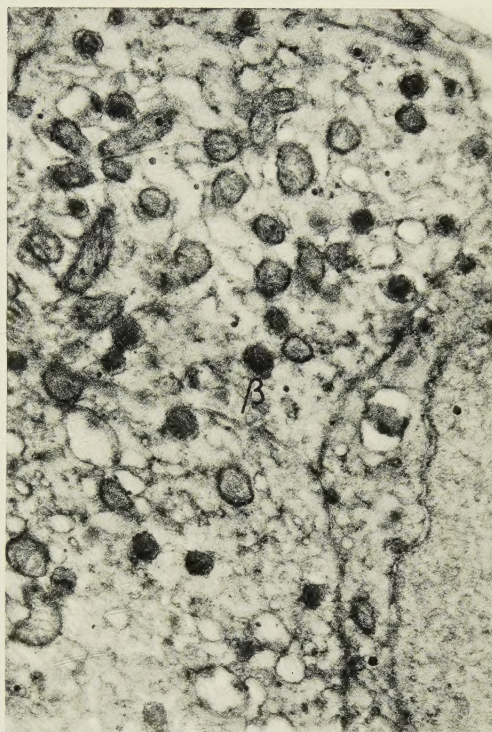
Phototypie Brunissen - Paris

Cellule endocrine de pancréas d'embryon de Rat jeune, mis en culture sur milieu de Wolff et Haffen en parabiose surrénalienne.

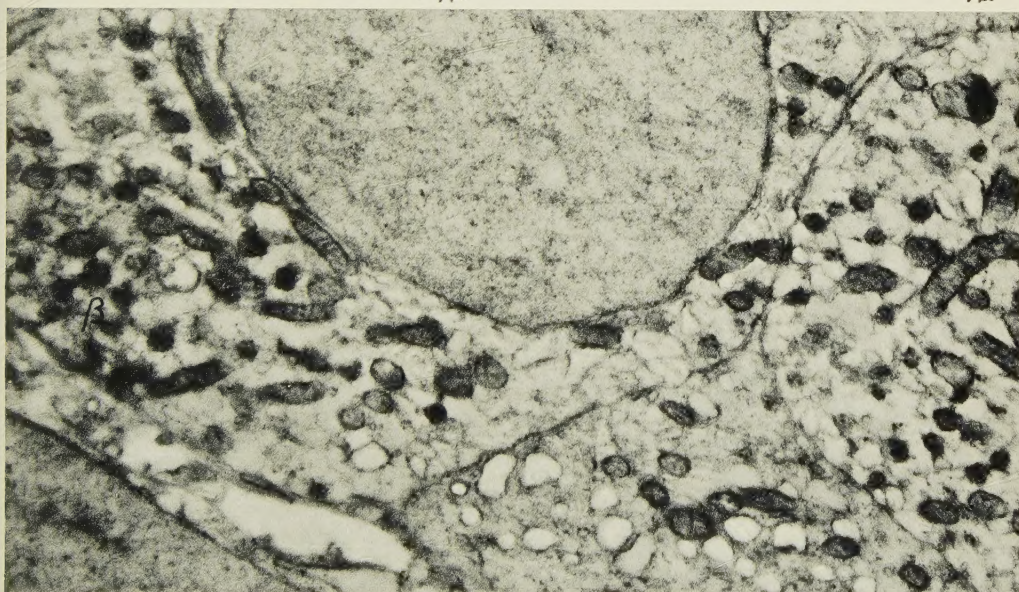




1 μ



1 μ

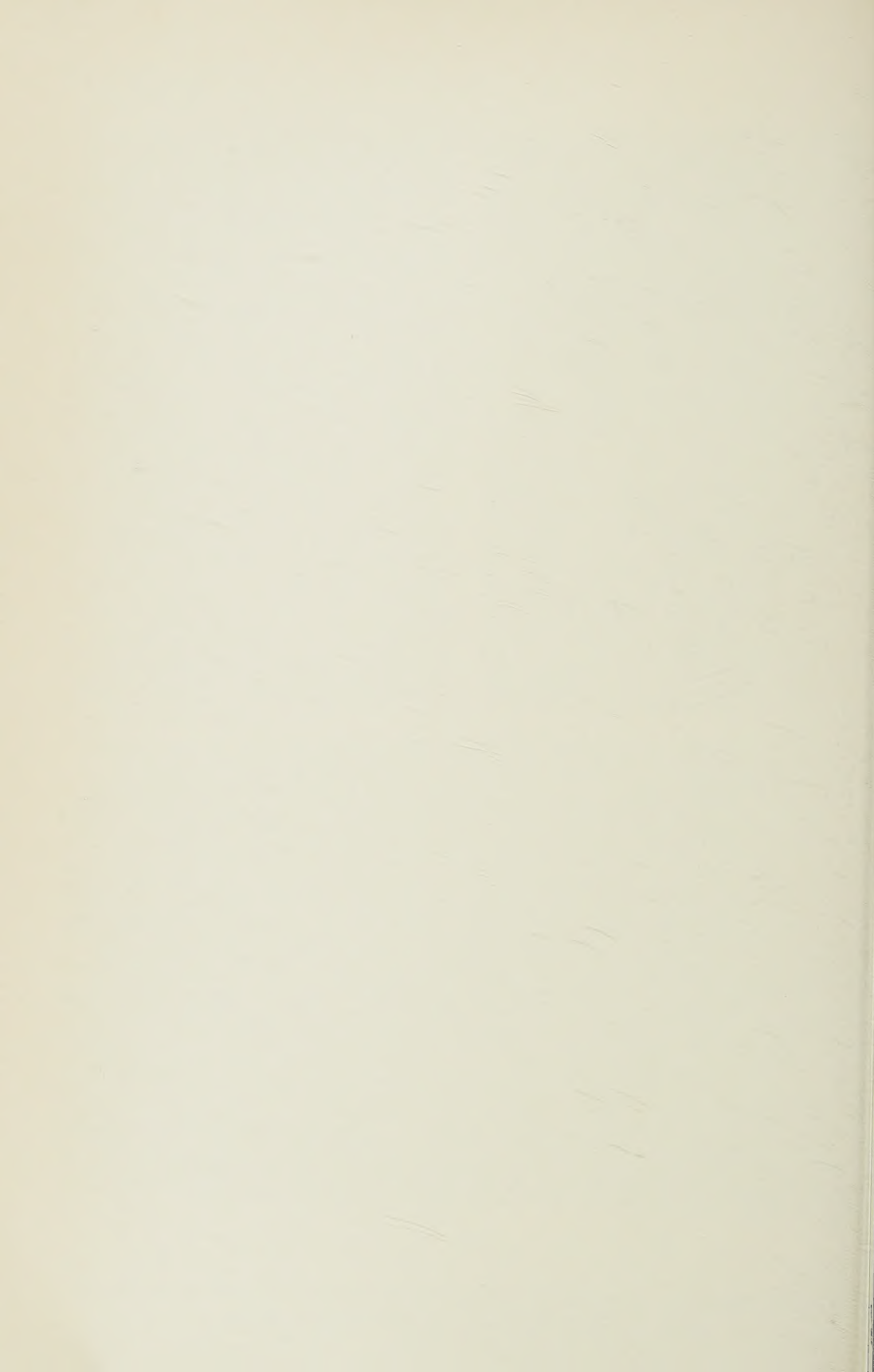


1 μ

Auct. phot.

Phototypie Brunissen - Paris

Cellules endocrines de pancréas d'embryon de Rat près du terme, mis en culture sur milieu de Wolff et Haffen en parabiose surrénalienne.



Soullisse et Cassegrain, Imp., Niort. Dépôt légal : 2^e trim. 1962. N^o d'ordre : 543.
Masson et C^{ie}, Edit., Paris. Dépôt légal : 2^e trim. 1962. N^o d'ordre : 3641.
(*Printed in France.*)